This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

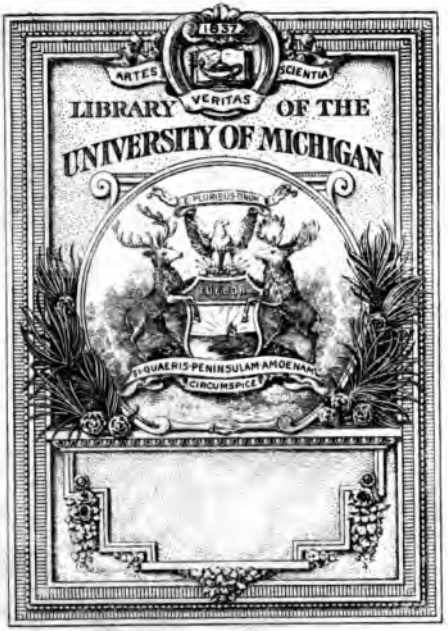
Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

BUHR A
[redacted]
a39015 01801500 1b

Taschenbuch
der
mikroskopischen Technik.

Von

A. Böhm und A. Oppel.


1837
ARTES
SCIENTIA
VERITAS
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE

207
.B47

Taschenbuch

der

65-936

mikroskopischen Technik.

Kurze Anleitung

zur mikroskopischen Untersuchung der Gewebe und Organe der Wirbeltiere und des Menschen

unter Berücksichtigung der embryologischen Technik.

Von

Dr. Alexander Böhm und **Dr. Albert Oppel,**

Prosektor a. o. Professor

an den Universitäten in

München. **Freiburg i. B.**

Dritte durchgesehene und vermehrte Auflage.

München.

Druck und Verlag von R. Oldenbourg.

1896.

Vorwort.

Die Brauchbarkeit des nunmehr in dritter Auflage vorliegenden Büchleins haben wir dadurch zu erhöhen gesucht, dafs wir an passenden Stellen literarische Nachweise eingeschaltet haben. Letztere sind so gewählt, dafs sie entweder die Quellen selbst oder solche Schriften anführen, aus welchen der Lernende näheres über die im Buche erwähnten Methoden erfahren kann. — Die den Autorennamen im Texte beigefügte Zahl weist auf das Jahr hin, in welchem die Arbeit erschienen ist (da wir nur mit Arbeiten aus diesem Jahrhundert zu thun haben, genügten die beiden Endstellen). Hierdurch wird möglich, im Literaturverzeichnis, für welches dieselbe Bezeichnungsweise gewählt wurde, die betreffende Abhandlung leicht aufzufinden. Waren mehrere Aufsätze desselben Autors aus demselben Jahre zu berücksichtigen, so haben wir dieselben durch Beifügung von a, b etc. zu der Jahreszahl unterschieden.

München, im Juli 1896.

Alexander Böhm. Albert Oppel.

Inhalt.

pag.

Allgemeiner Teil . . . . . 1—85

I. Abschnitt. Das Mikroskop . . . 1—16

1. Kapitel. Die Bestandteile des Mikroskops 1
2. » Über das mikroskopische Sehen 8
3. » Die Einstellung 11

II. Abschnitt. Die Anfertigung des Präparates 16—84.

1. Kapitel. Fixation für allgemeine Zwecke 20
2. » Durchtränkung 30
3. » Mikrotom 37
   Ranviers Mikrotom 38
   Jungsches Mikrotom (Schlittenmikrotom nach Thoma) 38
   Schanzes Mikrotom 41
   Weitere Mikrotome 42
4 » Weiterbehandlung des Schnittes 45
5. » Aufkleben 47
   mit Wasser (Alkohol) 48
   mit Eiweifs 49
   mit Kollodium 52
   mit Schellack 52
   nach Weigert (für Celloidinschnitte) . . . 52
6. » Paraffinbefreiung 54
7. » Einschliefsen 54
8. » Die Färbung 57
   Karminfärbung 59
   Hämatoxylinfärbung 62
   Anilinfarben 69
   Mehrfachfärbung 70
9. » Rekonstruktionsmethoden 77

		pag.
	Spezieller Teil	85—198
1.	Kapitel. Zelle	85
2.	» Epithelien und Endothelien	89
3.	» Blut und Lymphe	93
4.	» Bindegewebe und Fett	103
5.	» Knorpel	109
6.	» Knochen und Zähne	111
7.	» Muskel, Nerv und Nervenendigungen im Muskel	120
8.	» Rückenmark, Gehirn und Ganglien	130
9.	» Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle	146
10.	» Lymphdrüsen und Milz	150
11.	» Darm und Drüsen	152
12.	» Leber	159
13.	» Respirationsorgane; Thyreoidea und Thymus	163
14.	» Niere und Harnwege; Nebenniere	165
15	» Geschlechtsorgane und Notizen über embryologische Technik	168
16.	» Haut, Haare und sensible Nervenendigungen in der Haut	185
17.	» Auge	191
18	» Ohr	196
19.	» Nase	198
	Literaturverzeichnis	199—211
	Register	212—224

Allgemeiner Teil.

I. Abschnitt.

Das Mikroskop.

Es wäre eigentlich wünschenswert, mit vollkommenen Kenntnissen des Baues des Mikroskops und seiner Nebenapparate an die Arbeit mit demselben heranzutreten, und es unterliegt keinem Zweifel, dafs nur mit diesen tieferen Kenntnissen des Apparates das Maximum beim Untersuchen erreicht werden kann. Das spezielle Studium der Optik und der für mikroskopische Untersuchungen erforderlichen Instrumente ist deshalb nicht gering anzuschlagen. Da wir aber mit gegebenen Verhältnissen zu thun haben, so glauben wir, zum Eingang einige Bemerkungen über das Mikroskop machen zu dürfen, von denen wir, trotzdem dafs sie sich in den engsten Grenzen halten, doch Nutzen erhoffen.

1. Kapitel.

Die Bestandteile des Mikroskops.

1. Das Mikroskop ist ein zusammengesetztes Instrument, wechselnd von einfachem bis zu sehr kompliziertem Bau. Instrumente letzterer Art sind nur für feinste Untersuchungen nötig. Der folgenden Beschreibung liegt ein für tagtägliche Untersuchungen brauchbares, nicht zu kompliziertes Instrument zu Grunde.

2. Es gibt auch sogenannte einfache Mikroskope. Unter diesem Namen werden verstanden Lupen (Konvexlinsen). Diese befinden sich gewöhnlich an einem Stativ. Da sie die Hände des Beobachters frei lassen, auch das betrachtete Bild nicht umkehren, so können sie als Präpariermikroskope verwendet werden. Die einfachen Mikroskope sind nur geeignet für schwache Vergrößerungen.

3. Die einzelnen Teile des Mikroskops sind befestigt an einem **Stativ**. Dieses besteht aus einem **Fuß**, welcher schwer und feststehend, meist von Hufeisenform ist. Senkrecht auf dem Fuß steht die **Säule**, welche die übrigen Teile des Mikroskops trägt. Die letzteren befinden sich in drei Etagen übereinander an der Säule befestigt, sie sind von unten nach oben: der Spiegel, der Objekttisch und der Tubus.

4. Der **Spiegel** hat meist zwei verschieden gestaltete spiegelnde Seiten, eine plane und eine konkave. Derselbe muß nach allen Seiten frei beweglich sein.

5. Der **Tisch** hat in der Mitte ein Loch, um die vom Spiegel kommenden Lichtstrahlen durchfallen zu lassen, damit sie das auf dem Tisch über dem Loch liegende Objekt beleuchten. Dieses Loch kann durch eine am Tisch angebrachte Vorrichtung größer oder kleiner gemacht werden. Diese Vorrichtung wird **Blende** genannt. Die häufigsten Blenden sind die Scheibenblende und die Cylinderblende. Erstere ist leichter zu handhaben.

6. Die Scheibenblende ist eine an der Unterseite des Tisches befestigte Scheibe, welche um ihre Mitte drehbar ist. Dieselbe ist so angebracht, daß ihr Rand, wenn er undurchbohrt wäre, das Loch des Tisches so verdecken würde, daß keine Lichtstrahlen durchfallen könnten. Dieser Rand besitzt jedoch eine Anzahl verschieden weiter Löcher, welche durch Drehung der Scheibe unter dem Loch des Tisches vorbeibewegt werden können, und so nach Art eines Diaphragmas das Loch im Tisch weiter oder enger zu machen gestatten. In einer bestimmten Lage wird die Scheibe fixiert durch eine Feder, welche an ihrer Spitze einen Stift trägt, der jedesmal, wenn gerade eines der Löcher der Scheibe unter dem Centrum des Loches im Tische steht, in eine kleine Vertiefung einschnappt. Durch leichten Druck kann die Scheibe weiter bewegt werden.

7. Die Cylinderblende besteht aus einer am Tisch unter dem Loch befindlichen Hülse, in welche ein Cylinder eingeschoben werden kann. In diesen Cylinder können eine Reihe von verschieden weiten Diaphragmen eingesetzt werden, welche dem Mikroskop beigegeben sind.

8. Über dem Tisch befindet sich der **Tubus**. Derselbe, eine Röhre, steckt in einer durch einen Arm an der Säule

befestigten **Hülse.** Er kann durch die Hand in der Hülse verschoben und so höher oder tiefer gestellt werden.

Bei den meisten neuerdings angefertigten Instrumenten besteht der Tubus nicht aus einer Röhre, sondern aus zwei solchen, welche in einander geschoben oder ausgezogen den Tubus verkürzen oder verlängern. Das beste Sehen erfolgt bei einer vom Fabrikanten angegebenen Tubuslänge. Jedoch gestattet der ausziehbare Tubus, die Bildgröfse zu verändern, indem bei ausgezogenem Tubus die Vergröfserung eine stärkere ist, als bei eingeschobenem, was für die Wahl der Vergröfserung namentlich beim Zeichnen von Bedeutung ist.

Die beiden Enden des Tubus tragen die Linsen, das obere, dem Auge nahe Ende das **Okular**, das untere, dem Objekt nächstliegende Ende das **Objektiv.**

9. Das **Okular** besteht aus einer in den Tubus leicht einschiebbaren Röhre, welche an ihren beiden Enden Linsen und in ihrem Innern eine Blende trägt. Die Linse am obern, dem Auge näher befindlichen Ende nennt man die Okularlinse, die am untern Ende die Kollektivlinse.

10. Das **Objektiv** ist aus mehreren Linsen zusammengesetzt, welche nicht auseinandergenommen werden sollen. Diese Kombination wird auch Objektivsystem oder kurz System genannt. Die dem Objekt nächstliegende Linse nennt man die Frontlinse. Für unsere Zwecke sind mindestens zwei Objektive unumgänglich notwendig, ein schwächeres und ein stärkeres.

11. Zum mikroskopischen Sehen ist es notwendig, den Tubus mit den Linsen dem auf dem Objekttisch liegenden Objekt annähern oder von demselben entfernen zu können.

In grober Weise geschieht dies dadurch, dafs der Tubus in der Hülse verschieblich ist.

12. Eine sehr allmähliche und gleichmäfsige Bewegung bewirkt eine **Mikrometerschraube,** welche sich in der Säule befindet. Hier wird nicht der **Tubus** allein bewegt, sondern der ihn tragende Arm, bei manchen Stativen mit einem Teil der Säule.

In der Säule befindet sich eine starke Feder, welche den den Tubus tragenden Teil hebt, dieselbe wirkt der Mikrometerschraube entgegen. Schraubt man im Sinne des Uhrzeigers, so wird die Feder komprimiert und damit der Tubus gesenkt; dreht man im entgegengesetzten Sinne, so wird der Tubus durch die Feder gehoben. So sind die Verhältnisse z. B. bei den von Leitz angefertigten Stativen,

welche die Mikrometerschraube am oberen Ende der Säule tragen.

Bei manchen andern Firmen befindet sich die Mikrometerschraube am untern Ende der Säule.

13. Die bisher angegebenen Bestandteile des Mikroskops sind die durchaus notwendigen.

Empfehlenswerte Mikroskope sind z. B.:

E. Leitz in Wetzlar — Stativ III oder IV
mit Objektiven 3 und 7, und Okularen I und III
(Katalog 1895, Nr. 36).

C. Zeifs in Jena — Stativ VI und VII
mit den Objektiven C und E. Okulare 2 und 4
(Katalog Nr. 30, 1895).

W. u. H. Seibert in Wetzlar. — Stativ 5, 6 oder 8
mit Objektiven III und V und Okularen I und III.
(Preis-Verzeichnis Nr. 24, 1893).

Vergleiche ferner: Hartnack, Potsdam, Katalog 1894;
Reichert, Wien VIII, Katalog Nr. 10. 1896.

Eine Reihe von Vorrichtungen finden sich an teuereren Mikroskopen. Viele derselben sind für feinere Untersuchungen wünschenswert oder notwendig, zum Teil dienen sie der Bequemlichkeit und erleichtern so die Arbeit.

14. Das Stativ kann um mehrere Achsen bewegt werden. Einmal kann das ganze Stativ umgelegt werden (Bewegung um die horizontale Achse).

15. Öfter ist damit eine Drehung um die optische Achse verbunden, die z. B. für Untersuchungen im polarisierten Licht von Wert ist. Solche Stative sind meist gröfser und stärker gebaut.

16. Sie haben zur groben Einstellung Zahn und Trieb. Diese Vorrichtung, welche die Verschiebung des Tubus erleichtert, besteht aus einer am Tubus befestigten Zahnreihe, in welche ein an dem den Tubus tragenden Arm befindliches Zahnrad eingreift. Durch Drehung des letztern wird der Tubus gehoben oder gesenkt.

17. Als Revolver zum raschen Wechseln der Objektive dient meist eine Scheibe, welche mit Löchern versehen ist, in denen sich Gewinde zum Anschrauben der Objektive befinden. Die Scheibe wird dann unten an den Tubus angeschraubt und ist dort so beweglich, dafs, indem man sie verschiebt, bald das eine, bald das andere der Objektive unter den Tubus gebracht werden kann. Ein Revolver für drei Objektive genügt für die meisten Ansprüche.

18. Am Tisch finden sich, meist auch den kleinen Stativen beigegeben, Klammern, welche gestatten, den Objektträger in einer bestimmten Lage zu fixieren. Eine solche Klammer *besteht aus einem* Stift, an dem eine Feder befestigt ist. Im

Tisch finden sich Löcher, in welche die Stifte eingesteckt werden können, die Feder kommt auf den Objektträger zu liegen und wird durch Druck auf den Stift fixiert. Die Klammern sind von Wert, wenn z. B. ein Objekt gezeichnet werden soll, um ein Verschobenwerden desselben zu verhindern.

19. Eine Blende, welche leicht zu handhaben ist und zugleich den Vorteil bietet, nicht an die Zahl der beigegebenen verschiedenen Scheiben gebunden zu sein, ist die Irisblende. Durch einen einfachen Handgriff kann die Öffnung enger oder weiter gemacht werden.

20. Heizbarer Objekttisch siehe § 327.

21. Bewegung des Tisches mit dem Objekt bei ruhig stehendem Tubus kann bewirkt werden durch Drehung der Tischplatte.

22. Bei vielen Stativen gestatten zwei seitlich angebrachte Schrauben, den Objekttisch mit Objekt ganz allmählich zu verschieben; damit kann bei starken Vergrößerungen eine Verschiebung z. B. zur Centrierung eines Punktes ausgeführt werden, welche mit der Hand nicht mehr möglich wäre.

23. Der bewegliche Objekttisch gestattet ein regelmäßiges Bewegen des Objekts durch Schrauben in den beiden aufeinander senkrecht stehenden Richtungen der Tischebene. Diese Vorrichtung ist von Vorteil besonders für systematische Durchmusterung von Präparaten und gestattet, bestimmte Stellen im Präparat zu notieren und später wieder rasch aufzufinden.

24. Die Güte des Bildes wird wesentlich bedingt durch das **Objektiv.** Es wurden eine Reihe von stärkeren und schwächeren Objektiven konstruiert. Dieselben werden von den verschiedenen Fabriken in verschiedener Weise benannt: Leitz 1—9, Zeiss A—F. 1 und A sind die schwächsten Objektive, von da steigt die Schärfe bis zu 9 und F.

25. Bei stärkeren Objektiven befindet sich bisweilen eine Korrektion. Die Korrektion gestattet, die Fehler, welche durch verschiedene Dicke des Deckglases hervorgerufen werden, auszugleichen. Voraussetzung ist hiebei, daß man die Deckglasdicke kennt oder dieselbe bestimmt, andernfalls ist für den weniger Geübten ein festes System, an welchem vom Fabrikanten eine mittlere Korrektion ausgeführt ist, vorzuziehen.

26. Zur Bestimmung der Deckglasdicke gibt es Instrumente, sogenannte **Deckglastaster.** Die Messung geschieht durch eine Zange, welche das Deckgläschen faßt. Die Dicke wird an einem Zeiger abgelesen. Dieser Apparat kann jedoch selbstverständlich nur vor Anfertigung des mikroskopischen Präparats Verwendung finden.

27. Immersionssysteme (Tauchsysteme). Dieselben sind in verschiedenen Hinsichten, was Leistungen anlangt, den

Trockensystemen überlegen. Man schaltet je nach der Konstruktion des Systems einen Tropfen Wasser oder Öl zwischen Linse und Deckglas ein. Wasserimmersionssysteme und Öl- oder homogene Immersionssysteme. Letztere sind die vollkommensten.

28. Besonders ausgezeichnete, nach neuen Prinzipien mit neuen Glasarten gefertigte, aber auch teuerere Systeme sind von C. Zeifs eingeführt worden; es sind die „Apochromat-Objektive« oder kurz Apochromaten mit dazu gehörigen Kompensationsokularen. Die Apochromaten zeigen eine wesentlich vollständigere Korrektion der chromatischen und sphärischen Abweichungen und dadurch ein viel vollkommeneres Bild.

29. Die **Okulare** werden in verschiedenen Stärken angefertigt und mit Zahlen von Zeifs, Leitz und Seibert benannt, von den schwächeren zu den stärkeren ansteigend. Die gleichen Nummern entsprechen jedoch bei verschiedenen Firmen nicht gleichstarken Okularen.

30. Die **Vergrößerung** richtet sich nicht allein nach den Objektiven, sondern nach der Stärke der angewandten Okulare und der Tubuslänge. Es empfiehlt sich daher, wenn nicht vom Fabrikanten eine Vergrößerungstabelle für die Systeme bei bestimmtem Okular und bestimmter Tubuslänge beigegeben ist, dieselbe mittels eines Okularmikrometers und eines Objektivmikrometers oder durch Zeichnen des Objektivmikrometers in der in § 55 und § 56 angegebenen Weise zu bestimmen.

31. Mit dem Gebrauch stärkerer Systeme genügt die Lichtquelle, welche der Spiegel bietet, nicht mehr. Es wurden Apparate angegeben, welche die Lichtstärke beliebig abzustufen gestatten — Kondensor.

32. Der beste derartige und jetzt noch allein zu empfehlende Apparat ist der **Abbe'sche Beleuchtungsapparat,** welcher für feinere Untersuchungen unentbehrlich ist.

Derselbe wird unter dem Objekttisch angebracht. Er ist aus mehreren übereinander befindlichen Linsen zusammengesetzt, welche die vom Spiegel auffallenden Lichtstrahlen auf das Objekt vereinigen.

Eine Reihe von Hilfsapparaten, welche für bestimmte Zwecke unentbehrlich sind, bleiben noch anzuführen.

33. Der leitende Gedanke bei Konstruktion der verschiedenen Zeichenapparate war stets der, dafs die Lichtstrahlen vom mikroskopischen Bild und von der Zeichenfläche mit der Bleistiftspitze so ins Auge fallen müssen, dafs sie sich decken. *Dies geschieht* dadurch, dafs von einem der beiden die Strahlen

direkt ins Auge fallen, die vom andern, indem sie durch spiegelnde Flächen ins Auge abgelenkt werden.

Ob als spiegelnde Flächen Spiegel oder total reflektierende Prismenflächen verwandt werden, ist unwesentlich. Zwei Hauptgruppen können unterschieden werden; bei der einen wird das mikroskopische Bild direkt gesehen und die Zeichenfläche durch spiegelnde Flächen dem Auge sichtbar gemacht; dieser Apparat wurde von Abbe angegeben. Im zweiten Fall sieht das Auge direkt das Papier, und das mikroskopische Bild wird ihm durch die spiegelnden Flächen zugeführt. Oberhäuser'scher Zeichenapparat.

In beiden Fällen geschieht die Ablenkung durch einen Spiegel (nehmen wir der Einfachheit halber an, es würden überall Spiegel und keine Prismen verwendet), der unter einem Winkel von 45° über der Tischebene steht. Ihm gegenüber mit der spiegelnden Seite dem ersten zugekehrt, und parallel demselben steht ein zweiter Spiegel; in diesen sieht das Auge. Die Strahlen gelangen so vom einen Objekt in den ersten Spiegel, von da in den zweiten, von da ins Auge. Der zweite Spiegel hat ein Loch; durch dieses dringen Lichtstrahlen von dem darunter liegenden zweiten Objekt direkt ins Auge.

34. Für das Zeichnen mit schwachen Vergrößerungen bedient man sich besonderer Apparate, welche analog gebaut sind, wie die im vorhergehenden beschriebenen. Wir führen den Thomaschen Zeichenapparat (kann von R. Jung in Heidelberg bezogen werden) hier an. Derselbe gestattet, bis zu zehnfacher Vergrößerung zu zeichnen und auch zu verkleinern; er hat auch bei schwacher Vergrößerung ein großes Gesichtsfeld.

35. Die Apparate, welche zum Photographieren mikroskopischer Bilder benutzt werden, sollen hier nicht beschrieben werden. Demjenigen, welcher sich in diesen Zweig der mikroskopischen Technik einarbeiten will, empfehlen wir die im Litteraturverzeichnis aufgeführte Arbeit von Neuhauss (90).

36. Zur vollständigen Ausrüstung eines Mikroskops gehört auch der Polarisationsapparat, bestehend aus einem Polarisator, welcher unter dem Objekttisch befestigt wird und aus einem Analysator, der auf das Okular, resp. das obere Ende des Tubus aufgesetzt wird. Derselbe, wenn er auch nicht so häufig für histologische wie für mineralogische Untersuchungen gebraucht wird, kann meist auch an den kleinen Stativen angebracht werden. Wer mit demselben arbeiten will, muß seinen Bau eingehend kennen lernen. (Etwa nach Ambronn II., 92).

37. Ein Mikroskop, das allen Ansprüchen genügen soll, muß die Möglichkeit bieten, den Abbeschen Beleuchtungsapparat anzubringen. Es empfiehlt sich, zunächst ein Stativ mit dem Unentbehrlichsten anzuschaffen und

später den Abbeschen Beleuchtungsapparat und ein Immersionssystem nachzubestellen. Diesen Ansprüchen würden die in § 13 angeführten Stative nicht entsprechen, wohl aber z. B. folgende:

E. Leitz, Stativ III. 14, Stativ II. Stativ Ia oder II.
C. Zeifs, Stativ IV und V. Stativ IVb oder Vb.
W. und H. Seibert. Stativ Nr. 3.

38. Aufser diesen werden von den obigen Firmen noch gröfsere Stative angefertigt, z. B.:

E. Leitz. Stativ I.
C. Zeifs. Stativ I und IIa.
W. und H. Seibert. Stativ Nr. 1 und Nr. 2.

2. Kapitel.

Über das mikroskopische Sehen.

39. Im folgenden sollen nicht die Gesetze der Dioptrik vorgeführt werden, das bleibt dem Studium eines Lehrbuches der Physik überlassen; vielmehr wird nur dasjenige geboten werden, was nötig für den Mikroskopierenden ist, um sein Instrument gebrauchen zu können.

Wenn ein Lichtstrahl aus der Luft in Glas geht und dabei auf die Fläche des Glases schräg auffällt, so ändert er an der Übergangsstelle seine Richtung, er wird gebrochen. Eine an der Übergangsstelle senkrecht zur Glasfläche errichtete Linie nennt man Einfallslot. Der Lichtstrahl wird so gebrochen, dafs der Winkel, welchen er zum Einfallslot bildet, kleiner wird. Er wird zum Einfallslot gebrochen. Geht er wieder hinaus in Luft, so wird er vom Einfallslot weg gebrochen. Handelt es sich um eine Glastafel, deren Seiten parallel sind, so wird auch der austretende Strahl parallel dem einfallenden verlaufen. Brechungsindex ist gleich dem Verhältnis zwischen dem Sinus des Einfallwinkels und dem Sinus des Brechungswinkels. Der Brechungsindex ist bei denselben Medien stets konstant, bei verschiedenen, z. B. auch verschiedenen Glasarten, aber verschieden.

Handelt es sich nicht um eine Glastafel, sondern um ein Prisma oder eine Linse, so läuft der austretende Strahl nicht parallel dem einfallenden (von besonderen Fällen abgesehen). Es vereinigt z. B. eine Konvexlinse alle parallel auffallenden Strahlen annähernd in einem Punkt, ihrem Brennpunkt.

Diese Eigenschaft der Linsen, die Richtung der Lichtstrahlen zu verändern und in bestimmten Punkten zu vereinigen, führt dazu, dafs unter besonderen Umständen auch von Objekten ausgehende Lichtstrahlen wieder zu einem, dem Objekt ähnlichen Bild vereinigt werden (reelles Bild). Ein solches entsteht, wenn das Objekt aufserhalb der Brennweite einer

Konvexlinse liegt. Das Bild ist ein umgekehrtes. Gehen die Strahlen von einem Objekt aus, das zwischen einer Konvexlinse und ihrem Brennpunkt liegt, so werden dieselben nicht vereinigt, sie scheinen dann aus der Richtung ihrer Verlängerung herzukommen. Es erscheint dem Auge, als ob sie sich dort in ihrer Verlängerung schneiden, dasselbe sieht daher ein vergrößertes Bild des Objekts. Man nennt ein solches ein virtuelles Bild. Dasselbe ist aufrecht.

Im Mikroskop sind die beiden zuletzt angeführten Gesetze der Dioptrik benutzt, um im Auge ein vergrößertes Bild des Objekts entstehen zu lassen.

Das Objektiv entwirft ein umgekehrtes reelles Bild des Objekts im Tubus. Dieses Bild wird durch das Okular betrachtet. Die Okularlinse wirkt so, daß das Auge nicht direkt das vom Objektiv entworfene Bild, sondern ein virtuelles vergrößertes Bild desselben sieht, das natürlich umgekehrt bleibt.

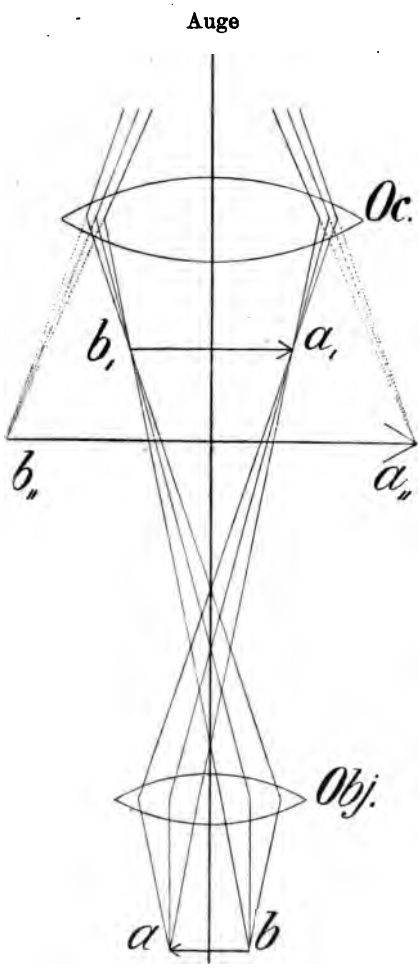
40. Man könnte schon damit sehen, aber als Verbesserung ist die Kollektivlinse eingeschaltet. Dieselbe hat den Zweck, das Gesichtsfeld zu vergrößern. Sie wandelt das vom Objektiv entworfene Bild in ein kleineres, verbessertes, lichtstärkeres Bild um, welches dann in der oben angegebenen Weise durch die Okularlinse betrachtet wird.

41. Den Weg der Lichtstrahlen durch das zusammengesetzte Mikroskop, das der Einfachheit halber nur aus zwei Linsen bestehend gedacht wird, veranschaulicht die beigegebene schematische Zeichnung. Wir betrachten zwei Punkte a, b eines Bildes a—b. Von a ausgehende Lichtstrahlen werden durch die Objektivlinse Obj. in a' vereinigt, von b ausgehende in b'; so entsteht ein umgekehrtes reelles Bild. Jenseits dieses Bildes divergieren die Strahlen wieder, dieselben werden durch die Okularlinse Oc gebrochen und gelangen unter schwacher Divergenz zum Auge. Die Schnittpunkte a'' b'' der Verlängerungen dieser Strahlen (im Schema punktiert) ergeben die scheinbare Größe, in welcher wir das Bild a—b erblicken.

42. Es empfiehlt sich, im allgemeinen mehr mit stärkeren Objektiven (als mit stärkeren Okularen) zu untersuchen, um das reelle Bild möglichst groß und gut zu bekommen. Es nützt weniger, dieses Bild durch Anwendung sehr starker Okulare viel größer zu sehen, da es hierdurch auch lichtärmer und daher nur wenig deutlicher wird.

Die sphärische und chromatische Aberration beeinträchtigen die Deutlichkeit der erzeugten Bilder.

43. Die sphärische Aberration beruht darauf, daſs wegen der Kugelgestalt der brechenden Fläche die von einem Punkt des Objekts ausgehenden Strahlen nicht genau in einem Punkt vereinigt werden. Dieselbe wird kompensiert durch Kombination mehrerer geeignet gekrümmter Linsen zu einem Objektivsystem an Stelle einer sehr stark gekrümmten.



44. Die chromatische Aberration beruht darauf, daſs das weiſse Licht aus verschiedenfarbenen Strahlen zusammengesetzt ist, welch letztere bei ihrem Weg durch die Linse verschieden stark gebrochen werden. Verbessert wird dieser Fehler, indem man Linsen aus verschiedenen Glassorten kombiniert. Flintglas hat ein stärkeres Brechungsvermögen, dabei aber ein noch viel stärkeres Farbenzerstreuungsvermögen als Crownglas. Wenn die Strahlen zuerst durch das Crownglas gehen, das die Form einer Konvexlinse habe, so werden dieselben stark gebrochen, und es tritt eine Farbenzerstreuung auf. Man kann nun eine Konkavlinse von Flintglas konstruieren, welche in ihrer Eigenschaft als Konkavlinse die Farbenzerstreuung fast ganz aufhebt. Die Ablenkung hebt dieselbe jedoch nur zum geringeren Teil auf. Es ist damit der Weg gegeben, um die Lichtstrahlen abzulenken und die Farben*zerstreuung* zu eliminieren.

3. Kapitel.

Die Einstellung.

45. Um die Objekte, welche untersucht werden sollen, in geeigneter Weise hierfür vorzubereiten, bedient man sich allgemein dickerer und dünnerer Glasplatten, ersterer, um das Objekt daraufzulegen, letzterer, um dasselbe damit zu bedecken. Man nennt sie **Objektträger** und **Deckgläschen.**

46. Der **Objektträger** ist eine Glasplatte von Rechteckform. Die handlichste Gröfse ist das englische Format 76 : 26 mm. Dasselbe bietet für ein grofses Deckglas und für zwei Etiketten Raum. Letztere werden zu beiden Seiten des Deckglases aufgeklebt, wenn das Präparat aufgehoben werden soll, um darauf zu notieren: Tier, Organ, Fixierung, Färbung, Datum, eventuell Seriennummer.

Ein kleineres Format ist für Präparate, welche nicht aufbewahrt werden sollen, wohl auch genügend, doch gewöhnt man sich besser an ein einheitliches Format.

Der Objektträger mufs aus reinem Glas bestehen, braucht jedoch keine geschliffenen Kanten zu haben.

Für manche spezielle Zwecke empfehlen sich durchbohrte Objektträger. Dieselben können eventuell auch von Holz angefertigt werden.

47. Deckgläschen sind kleine dünne Glasplättchen. Die Dicke derselben beträgt meist 0,1—0,2 mm. Die Gröfse der Deckgläschen richtet sich nach dem Objekt, es empfiehlt sich, mindestens solche von zwei Gröfsen vorrätig zu halten. Runde Deckgläschen sind nur für ganz bestimmte Zwecke erforderlich.

Deckgläschen liefern z. B. W. P. Stender in Leipzig und H. Vogel in Gieſsen.

48. Das Ganze pflegt man ein mikroskopisches Präparat zu nennen.

Doch ist damit nicht gesagt, dafs hiezu stets Objektträger und Deckgläschen notwendig wären, es kann z. B. unter gewissen Umständen geboten sein, Präparate ohne Deckglas anzufertigen oder ein Objekt zwischen zwei Deckgläschen einzulegen.

49. Bedingung für Beobachtung mit durchfallendem Licht ist, dafs das zwischen Objektträger und Deckgläschen befindliche Objekt ganz oder zum Teil durchsichtig oder wenigstens durchscheinend ist.

Um das Objekt zu sehen, mufs das Präparat auf den Objekttisch gebracht, beleuchtet, und es mufs der Tubus

so gestellt werden, dafs die Frontlinse des Objektivs sich in der richtigen Entfernung vom Objekt befindet. Dies nennt man Einstellen.

50. Das **Einstellen mit schwachem Objektiv** (wir fassen hierbei Leitz Obj. 3 ins Auge; für andere Systeme sind die Abstände verschieden) geschieht in folgender Weise:

Zuerst wird das Mikroskop auf einen feststehenden Tisch nahe einem Fenster, das den Ausblick auf einen möglichst grofsen Abschnitt des Himmels gewährt, gestellt. Das Mikroskop bleibt während der ganzen Untersuchung an derselben Stelle und wird nicht verschoben.

Jetzt schraubt man an das untere Ende des Tubus das schwache Objektiv an. Dabei hüte man sich, die Windungen durch unrichtiges, namentlich gewaltsames Eindrehen zu beschädigen. Dann setzt man in das obere Ende des Tubus ein schwaches Okular, z. B. Leitz Nr. I, ein und sieht hinein. Zunächst sieht man unter Umständen noch nichts.

Man verschiebt dann den Spiegel, indem man diejenige Spiegelstellung sucht, bei welcher derselbe das vom Fenster auf ihn fallende Licht, am besten das einer weifsen Wolke (schlechter: der blaue Himmel), so reflektiert, dafs die Strahlen in den Tubus, durch denselben und in das Auge des Beobachters fallen. Man sieht dann einen hellen Kreis, welcher **Gesichtsfeld** genannt wird, in dem Gesichtsfeld erscheint später das mikroskopische Bild.

Nun legt man das Präparat auf den Objekttisch und zwar so, dafs die Stelle des Objekts, welche man besehen will, in der Mitte des Loches im Tisch sich befindet.

Dann wird der Tubus langsam stets in drehender Bewegung in der Hülse nach abwärts geschoben, bis die Frontlinse etwa noch $1^1/_2$ cm vom Objekt entfernt ist. Dann wird wieder hineingesehen und sehr langsam stets drehend nach abwärts geschoben, bis irgend etwas, wenn auch kein deutliches Bild im Gesichtsfeld erscheint. Wird etwas, wenn auch nur undeutlich, sichtbar, so hört man sofort auf zu senken. Es beginnt dann die feinere Einstellung mit der Mikrometerschraube.

51. Zur Einstellung mit der Mikrometerschraube genügt meist eine geringe, halbe bis höchstens ganze Umdrehung, um das vorher verschwommene Bild in seiner ganzen Deutlichkeit hervortreten zu lassen. Von nun an bleibt während des Sehens die eine Hand stets an der Mikro-

meterschraube, und zwar aus folgendem Grund. Da man stets nur in einer Ebene gut sieht, der Schnitt aber eine bestimmte Dicke hat, so mufs man bald etwas höher, bald etwas tiefer einstellen. Das geschieht dadurch, dafs man während des Sehens die Mikrometerschraube von Zeit zu Zeit um ein geringes nach beiden Richtungen abwechselnd dreht.

Die Mikrometerschraube läuft bei längerem Gebrauch, wenn nach einer Seite mehr als nach der anderen gedreht wird, zu Ende und mufs dann um einige Windungen zurückgedreht werden.

Für den Anfänger empfiehlt es sich, beim Mikroskopieren das eine Auge zu schliefsen. Später lernt man sehen auch bei offenem anderem Auge.

52. Will man ein **stärkeres** Objektiv benützen, so wird in derselben Weise wie oben verfahren, nur ist hier zu beachten, dafs die Entfernung der Frontlinse vom Deckglas nur noch eine ganz geringe ist. Man schiebt daher den Tubus zunächst nach abwärts, bis die Frontlinse etwa noch 1 mm vom Deckglas entfernt ist, sieht dann ins Mikroskop und schiebt nun äufserst vorsichtig und langsam mit der Hand den Tubus immer in drehender Bewegung nach abwärts. Ist etwas sichtbar geworden, so folgt feine Einstellung mit der Mikrometerschraube. Das Einstellen mit starkem Objektiv erfordert gröfste Vorsicht, da es sich hier um Bruchteile eines Millimeters handelt. Hat man zu tief nach abwärts gedreht, so passiert es leicht, dafs das Deckgläschen eingedrückt und so mit dem Objekt zerstört wird. Auch eine Beschädigung der Linse ist nicht ausgeschlossen.

53. Es bleibt auch für weitere Untersuchungen, wenn stärkere Systeme dabei angewandt werden sollen, Regel, stets mit dem schwachen Objektiv zu beginnen. Stärkere Okulare sind nur ausnahmsweise anzuwenden. Sie sind für die Regel unnötig.

Es wird demnach untersucht zuerst mit z. B. Leitz-Okular I, Objektiv 3, dann mit Okular I, Objektiv 7.

54. Die **Benützung der Blende** ist auszuprobieren, man lernt sie meist erst bei feineren Untersuchungen in ihrem vollen Werte würdigen. Für den Anfang gelte es als Regel, dafs für eine schwache Vergröfserung keine engen Blenden angewandt werden.

Eine bedeutende Rolle spielt die Blende bei Anwendung des Abbeschen Beleuchtungsapparates. Hier empfiehlt es sich

stets, wenn man Strukturen sehen will, die Randstrahlen abzublenden. Will man dagegen nur Farben sehen (z. B. gefärbte Bakterien oder gefärbte Karyokinesen), so lasse man das Licht voll einwirken.

55. Will man Objekte mittels des Okularmikrometers, einer ins Okular einsetzbaren Glasplatte mit eingeritzten Teilstrichen, **messen**, so mufs der Wert eines Teilstriches desselben bekannt sein.

Meist wird der Wert des Teilstriches für jedes System eines Instruments bei bestimmter Tubuslänge vom Fabrikanten angegeben.

Will man den Wert des Teilstriches des Okularmikrometers selbst bestimmen, so braucht man dazu einen Objektivmikrometer. Der Objektivmikrometer ist ein Objektträger, auf welchem 1 mm durch eingeritzte Teilstriche in eine bestimmte Zahl, z. B. 50 oder 100 Teile, geteilt ist. Man stellt nun unter Benützung des Okularmikrometers den Objektivmikrometer ein und sieht, wie viele Teilstriche des Objektivmikrometers ersterer deckt. Deckt z. B. der 100teilige Okularmikrometer 80 Teilstriche des 100teiligen Objektivmikrometers, so hat ein Teilstrich des Okularmikrometers den Wert von $\frac{0{,}80}{100}$ mm = 0,008 mm.

Für die spätere Messung mufs dieselbe Tubuslänge beibehalten werden.

Der Wert eines Teilstriches wird ausgedrückt in $\frac{1}{1000}$ mm ($\frac{1}{1000}$ mm ist die Einheit der Mikroskopiker und wird genannt ein Mikron, geschrieben 1 μ). Ist beispielsweise der Wert eines Teilstriches mit einem bestimmten System und bestimmter Tubuslänge = 8 μ, und mifst ein Objekt 7 Teilstriche, so ist die wirkliche Gröfse des Objekts 7 . 8 μ = 56 μ (56 Mikra) oder = 0,056 mm.

Man benutzt den Okularmikrometer in der Weise, dafs man denselben in das Okular unter zeitweiliger Abnahme der Okularlinse auf die im Okular befindliche Blende legt und dann einstellt.

56. Für Gröfsenbestimmungen kann man sich auch des Objektivmikrometers allein bedienen. Mittels eines Zeichenapparates zeichnet man die Striche des Objektivmikrometers ab und legt das Präparat an Stelle des Objektivmikrometers. Es decken sich dann das mikroskopische Bild und die Teilstriche auf dem Papier im Auge. Da die Gröfse eines Teilstriches des Objektivmikrometers bekannt ist, so kann man damit direkt messen.

Für eingehendere Orientierung über die vorstehenden Kapitel verweisen wir auf Dippel (82) und Zimmermann (95).

Instandhalten des Mikroskops.

57. Eine stete Reinhaltung des Mikroskops ist notwendig. Bleibt das Mikroskop aufserhalb seines Kastens stehen, so mufs es mit einem Glassturz bedeckt werden, dabei mufs die Unterlage eine weiche sein.

Der Objekttisch ist sorgfältig rein zu halten, auf der Unterseite feuchte Objektträger dürfen nicht aufgelegt werden.

58. Einer öftern **Reinigung** bedürfen die **Linsen** des Okulars, vor allem ist die dem Beobachter zugekehrte Fläche der Okularlinse vor Benützung mit einem trockenen Tuch abzuwischen.

Besondere Vorsicht erfordert die Reinigung der Objektive. Hier kommt hauptsächlich die Frontlinse in Betracht, welche durch das Präparat und seine Bestandteile beschmutzt werden kann, wenn es auch vermieden werden sollte.

Reinigen der Tauchlinsen, die mit Öl beschmiert waren, geschieht dadurch, dafs man das Öl mit dem reinsten schwedischen Fliefspapier auf das vollkommenste absaugt und die Linsen definitiv mit einem feinen, in Alkohol getauchten Leinwandlappen rasch reinigt.

Glycerin- und Wasserflecken werden mit einem trockenen Tuch abgewischt.

Canadabalsam wird mittels eines Tuches entfernt, das mit einem Canadabalsam lösenden Mittel (siehe § 121 und § 200), z. B. Xylol oder Benzin, angefeuchtet ist. Das Abwischen mit diesen Mitteln mufs mit besonderer Vorsicht geschehen, um die Kittmasse, welche die Linsen in ihrer Fassung hält, nicht zur Lösung zu bringen, was geschehen kann, da Xylol durch Kapillarität leicht aufgesaugt wird.

59. Zu warnen ist hier noch davor, ein stark erwärmtes Präparat, namentlich mit einer stärkeren Vergröfserung betrachten zu wollen, da auch dadurch eine Beschädigung der die Linsen befestigenden Kittsubstanz erfolgen kann.

60. Der Tubus mufs stets leicht in der Hülse verschieblich sein, geht er schwer, so mufs er herausgenommen, gereinigt und geölt werden, doch darf nicht so stark geölt werden, dafs der Tubus von selbst durch seine eigene Schwere nach abwärts gleitet. Ein Tropfen Öl genügt, dieser wird dann durch Drehen des Tubus in der Hülse gleichmäfsig ausgebreitet.

61. Bei Anfertigung eines mikroskopischen Präparates müssen Objektträger und Deckgläser stets vorher gereinigt werden; dies geschieht durch Feuchtmachen und intensives Abwischen mit einem reinen Taschentuch.

Um die Objektträger, resp. Deckgläser, vom Hüttenrauch zu reinigen, taucht man sie auf längere Zeit in eine konzentrierte Salpetersäure und spült dann mit reinem Wasser, absolutem Alkohol eventuell Äther ab. Für gebrauchte Objektträger und Deckgläser, die mit Balsam u. s. w. beschmutzt sind, empfiehlt sich folgende Waschflüssigkeit, worin die Objektträger, resp. Deckgläser längere Zeit verweilen und mit Alkohol, resp. Wasser abgespült werden; Wasser 2000, doppeltchromsaures Kalium 200, starke Schwefelsäure 200.

II. Abschnitt.

Die Anfertigung des Präparates.

62. Es gibt eine Reihe von Organen, welche ohne weiteres im **frischen** Zustande untersucht werden können. Es sind beispielsweise die Blutkörperchen, dünne Platten, wie Mesenterium, Omentum; weiter dünne, durchsichtige Nerven, Gefäfse, Knorpelstücke, Haare u. s. w., abgestofsene oder abgeschabte Zellen (Epithelien der Mundhöhle), Spermatozoen, Eier und ähnliches.

63. Das Töten der Tiere erfolgt zweckmäfsig bei Luftatmern durch Einatmenlassen von Chloroform (indem man die Tiere etwa mit einem mit Chloroform getränkten Wattebausch unter eine Glasglocke oder in eine luftdicht schliefsende Kiste verbringt), oder durch Kopfabschneiden unter eventueller nachfolgender Zerstörung des Gehirnes und Rückenmarkes mit einer Nadel. Wasseratmer werden in mit Chloroform geschütteltes Wasser verbracht.

64. Bei einigen Tieren, z. B. beim Frosch (siehe § 349 und folgende) kann man an einem noch lebenden Tiere zahlreiche Organe resp. Gewebe beobachten (Lunge, Mesenterium, Zunge, Haut, Pigmentzellen, Nerven, Gefäfse, Blut u. s. w.); bei demselben Tiere kann man an einer ausgebreiteten Harnblase glatte Muskeln, Epithelien etc. bequem beobachten.

Andere Organe lassen sich durch verhältnismäfsig geringe Eingriffe frisch in Stücke zerlegen, die ohne weiteres

beobachtet werden können. Es lassen sich beispielsweise mit Leichtigkeit Sehnen und Muskeln durch Zupfen in Fasern und Fibrillen zerlegen.

65. Beim **Zupfen** bediene man sich zweier in Griffen befestigter Nadeln. Handelt es sich um Objekte, welche in der Längsrichtung gefasert werden sollen, so setze man eine Nadel an einer Stelle des Stückes auf und zerfasere mit der andern das Objekt, indem man dieselbe stets zur Längsrichtung des Objekts senkrecht bewegt. Die Nadeln müssen stets rein und spitz sein, man schleife sie auf einem Steine.

66. Einige Gewebe sind so konsistent, dafs man sie mit einem gewöhnlichen Rasiermesser schneiden und in dieser Weise dünne durchsichtige Lamellen gewinnen kann. Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert Übung, um gute Resultate zu geben. Doch kommt man rascher zum Ziele, wenn man von Anfang an bestimmte Regeln beobachtet.

Man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, d. h. so, dafs man mit einer Stelle des Messers beginnt zu schneiden, aber nicht mit dieser Stelle das Stück durchschneidet, sondern die Klinge während des Schneidens ihrer Längsrichtung parallel am Stück vorbeizieht.

Man schneide stets feucht, d. h. das Stück, welches geschnitten wird, darf nicht trocken sein, und die Klinge mufs mit einer geeigneten Flüssigkeit vor jedem Schnitt befeuchtet werden.

Eine ungezwungene Handhaltung ist erforderlich. Man fasse das geöffnete Rasiermesser von oben mit dem Daumen auf der der Schneideseite entsprechenden Partie des Griffs und des anliegenden Messereinsatzes, mit dem Zeige- und Mittelfinger auf dem der Rückenseite entsprechenden Teil.

Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest zwischen die drei ersten Finger der andern Hand, halte dieselbe so, dafs der gekrümmte Zeigefinger parallel der Tischebene steht; man kann nun beim Schneiden den Messerrücken auf den Zeigefinger aufstützen.

Zum Halten des Präparats, wenn es kleine Stücke sind, kann man Holundermark oder in Alkohol gehärtete Leberstücke verwenden.

Zuerst lerne man, kleine, aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst gröfsere.

67. Wohlgeschliffene und gut abgezogene Messer sind das erste Erfordernis für gutes Schneiden. Schneiden und Abziehen lernt man leichter und besser durch das Sehen. Das Rasiermesser muſs stets vor dem Gebrauch auf dem Streichriemen abgezogen werden. Hierbei lege man das Rasiermesser mit seiner ganzen Fläche auf den Riemen und ziehe es mit dem Rücken voran über denselben weg, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge des Messers mit dem Riemen in Berührung kommen läſst, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer, ohne es wegzunehmen, über den Rücken und verfahre zurück ebenso mit der andern Seite, und so fort.

68. Durch frische, verhältnismäſsig kompakte Organe, wie Niere, Leber etc., lassen sich mit dem gewöhnlichen Rasiermesser einigermaſsen gute Schnitte bei groſser Übung herstellen, die aber dick auszufallen pflegen. Dünne, durchsichtige Lamellen durch solche Gewebe lassen sich eher mit einem sogenannten **Doppelmesser** anfertigen.

69. Das **Doppelmesser** besteht aus zwei Klingen an einem Heft; die parallel gestellten beiden Klingen liegen einander an, so daſs sie sich an der Spitze berühren und nahe dem Heft etwas weiter von einander entfernt sind. Durch eine Schraube können die beiden Messer einander mehr oder weniger genähert werden. Wird die Schraube gelöst, so kann das eine Messer an einem Scharnier aufgeklappt werden. Für feine Schnitte kommt nur die Stelle des Messers in Betracht, an der die beiden Klingen sich sehr nahe stehen, ohne sich jedoch zu berühren.

Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt dann in zwei Teile und in eine feine, zwischen den beiden Klingen befindliche Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube und Aufklappen der einen Klinge von einander entfernt.

70. Will man frische überlebende Organe längere Zeit möglichst unverändert beobachten, so gebraucht man als **Zusatzflüssigkeit** sogenannte indifferente Lösungen. Als solche wendet man an

71. Humor aqueus, Lymphe, Gewebssaft;

72. die physiologische Kochsalzlösung ($^3/_4$%ige *wässerige Lösung*);

73. das sogenannte M. Schultzesche (64) Jodserum (Amnios-Flüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod oder mit wenigen Tropfen Jodtinktur versetzt) (ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Wasser);

74. Jod-Jodkalium nach Ranvier:

100 Wasser,
2 Jodkalium und
Jod bis zur Sättigung;

75. Kroneckersche Flüssigkeit:

destilliertes Wasser	100 g
Chlornatrium	6 »
Natriumkarbonat	0,06 »

76. Die Flüssigkeit von Ripart und Petit:

Kupferchlorid	0,3 g
Kupferacetat	0,3 »
Kampferwasser	75 ccm
dest. Wasser	75 »
Eisessig	1 »

Das Ganze ist unmittelbar nach der Mischung gelb, klärt sich aber nach ein paar Stunden und mufs dann filtriert werden.

77. Die meisten Organe lassen sich im frischen Zustande nicht in dünne Lamellen, weder mit dem Rasier- noch Doppelmesser, zerlegen; entweder sind sie zu hart, z. B. infolge des Kalkgehaltes, wie Knochen, Zähne, und werden durch Entkalken schnittfähig gemacht (siehe § 383 ff.), oder sie müssen geschliffen werden (siehe § 402 ff.), oder sie sind zu wenig konsistent. Will man letztere in dünne Lamellen zerlegen, so mufs man denselben eine Konsistenz verleihen, die das Schneiden ermöglicht.

Am einfachsten läfst man solche Organe gefrieren (siehe § 155 ff.) oder kleinere Stücke trocknen und schneidet sie dann. Ersteres verdient immer noch den Vorzug. Im letzteren Falle untersucht man die Schnitte, indem man denselben so viel Wasser zusetzt, bis sie ihr ursprüngliches Volumen annähernd erreicht haben.

78. Man kann aber die Objekte auf eine andere Weise durch Wasserentziehen, resp. Koagulieren des Eiweifses härten, nämlich durch **Alkohol.** Man wendet die **Alkoholhärtung** entweder in der Weise an, dafs man die nicht zu grofsen Organstücke erst mit schwachen und dann mit stärkeren Alkohollösungen behandelt (für ein 1 ccm grofses Stück mit 50-, 70-, 90%igem Spiritus je 24 Stunden) oder wenn die Stücke sehr klein sind, nicht über ein paar Millimeter im kleinsten Durchmesser, indem man sie direkt mit sehr

starkem 90%igem Spiritus und bei den allerkleinsten unter 1 mm mit absolutem Alkohol härtet.

79. An frischen Objekten sieht man aufserordentlich viele Dinge gar nicht, weil im frischen Zustande die Verschiedenheit des Lichtbrechungsvermögens der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas eine sehr geringe ist.

Das Gefrieren und das Trocknen ist sehr eingreifend. Beim Gefrieren kommt es, wie Key und Retzius (82) nachgewiesen haben, durch die sich bildenden Eiskrystalle zu Zerreifsungen, die beim Auftauen des Schnittes nicht ganz ausgeglichen werden. Beim Trocknen schrumpfen die Stücke, namentlich bei sehr wasserhaltigen Organen, aufserordentlich, wobei es zu Dislokationen kommt, die beim Wasserzusatz nur unvollständig gehoben werden.

Pleuge (96) empfiehlt, die Stücke vor dem Gefrierenlassen mit Formol zu fixieren (s. § 117; es kann schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde geschnitten werden), für Schnelldiagnosen.

Die Härtung mit Alkohol ist ebenfalls für die Erhaltung feiner Strukturen nicht immer geeignet, ja in sehr vielen Fällen, z. B. Kerne, Nerven, Fett, ganz unbrauchbar.

In folgendem beschäftigen wir uns mit der Angabe von Methoden, welche die Einsicht in die Struktur massiger Gewebe und Organe erlaubt, wobei die Strukturverhältnisse einigermafsen erhalten bleiben und den im Leben bestehenden nach Möglichkeit nahe kommen.

1. Kapitel.

Fixation für allgemeine Zwecke.

80. Wir verstehen darunter jene Fixationsmethoden, die auf viele, ja manche auf alle Organe mit gleichem Erfolge angewandt werden. Sie leisten, auf verschiedene Organe angewandt, nicht gleich Gutes, erlauben aber einen Einblick in den allgemeinen Bau der Organe.

Die **Fixierung** geschieht in der Regel in der Weise, dafs man einem frisch getöteten Tiere entnommene Stücke in bestimmte Flüssigkeiten, sogenannte Fixierungsflüssigkeiten, legt. Die Gröfse der einzulegenden Stücke ist eine verschiedene; ist die Dicke des Stückes eine geringe, so kommt die Länge und Breite nicht in Betracht; Beispiel: dünne Membranen, da solche von Fixierungsflüssigkeiten rasch durchdrungen werden. Die Stückgröfse kann demnach eine beliebige sein, wenn die kleinste Seite des Stückes

die im folgenden stets angegebene Gröfse nicht überschreitet. Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten her zu ermöglichen, ist es notwendig, den Boden der Gefäfse stets mit Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf erst die Stücke zu legen.

81. Stets hat man bei der Fixierung im Auge zu behalten, dafs die Flüssigkeiten die Objekte nicht in dem Zustand zu erhalten vermögen, in welchem sie im Leben sind; vielmehr sehen wir ganz veränderte Verhältnisse und suchen, aus diesen auf diejenigen zu schliefsen, welche im Leben herrschen. Da jedoch wenigstens die gröberen Verhältnisse durch diese Flüssigkeiten erhalten werden, hat man dieselben Fixierungsflüssigkeiten genannt und spricht von der Konservierung eines Objekts. Doch ist im Auge zu behalten, dafs durch die verschiedenen Reagentien die Verhältnisse in ganz verschiedener Weise verändert werden.

Wir schildern der Reihe nach die heute gebräuchlichsten Fixationsflüssigkeiten.

82. Alkohol, angewendet in der in § 78 geschilderten Weise, namentlich in stärkeren Konzentrationen (90%ig, absolut) kann, wenn es sich nicht um feinere Strukturverhältnisse handelt, auch als Fixierungsflüssigkeit dienen.

83. Chromsäure wird meistens in einer 1/3- bis 1/2%igen wässerigen Lösung angewandt. Die zu fixierenden Stücke, je kleiner, desto besser, nicht über 1 cm im kleinsten Durchmesser betragend, werden in sehr viel Chromsäure, mindestens 50mal mehr Flüssigkeit, als wie das Volumen des zu fixierenden Stückes beträgt, auf 24 Stunden gelegt. Bei gröfseren Stücken kann die Flüssigkeit nach 24 Stunden gewechselt werden und das Stück in einer frischen, ebenso starken oder etwas stärkeren, etwa 1/2%igen, abermals 24 Stunden verbleiben. Die Stücke werden nun ausgewässert, und zwar in grofsen Mengen Wassers, das oft gewechselt wird, oder noch besser im fliefsenden Wasser. Das Auswaschen dauert ebenso lange, wie das Fixieren, es sollen die Stücke nach dem Auswaschen möglichst wenig von der gelben Chromfarbe mehr besitzen.

Aus dem Wasser kommen die fixierten, fast farblosen Stücke auf 24 Stunden in 70%igen Spiritus, um nach 24 Stunden in 90%igen Spiritus übertragen zu werden. Die Menge des zu benutzenden Spiritus mufs mindestens das Volumen des Stückes 30mal überschreiten. Letztere Operationen werden im Dunkeln vorgenommen.

Die Chromsäure wurde zuerst von Hannover (40) als Fixationsflüssigkeit empfohlen und wurde früher sehr allgemein

benutzt; sie fixiert ziemlich gut die chromatischen Substanzen des Kernes.

Die Chromsäure geht mit Eiweifs und Leim schwerlösliche Verbindungen ein und wird deshalb als Fixierungsmittel gebraucht. Tappeiner (90).

84. Das **doppelt chromsaure Kalium** (Synonyme: saures chromsaures Kalium, dichromsaures Kalium) in von 2 auf 5 % ansteigender (d. h. zuerst in 2 %iger, beim Wechseln 3 %iger, dann 4 etc. %iger) wässeriger Lösung, die Müllersche und Erlickische Flüssigkeit kommen bei der Untersuchung sämtlicher Organe in Anwendung. Das Kalium bichromicum und die Müllersche Flüssigkeit werden ziemlich in gleicher Weise benutzt, aber, wie gesagt, Kalium bichromicum in ansteigender Konzentration. Auch hier empfiehlt sich Behandlung im Dunkeln.

85. Die **Müllersche** (59) **Flüssigkeit** besteht aus

2 bis 2½ g Kalium bichromicum,
1 g Natrium sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Nicht allzu grofse Stücke werden in diesen Flüssigkeiten sehr lange Zeit im Dunkeln fixiert; in der ersten Woche wird die Flüssigkeit alle zwei Tage gewechselt, später jede Woche zweimal; mitteldicke Objekte, wie z. B. Rückenmark des Menschen, brauchen etwa 6—8 Wochen.

86. Beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten und bei gleicher Anwendung nimmt die **Erlickische Flüssigkeit** in Anspruch. Sie besteht aus

2½ g Kalium bichromicum,
½ g cuprum sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Man wechselt die Flüssigkeit alle zwei Tage. Die Fixierung erfolgt in 3—4mal kürzerer Zeit wie bei der Müllerschen.

87. Bei diesen langsam fixierenden Flüssigkeiten kommt es klar zum Ausdruck, von welch grofsem Einflufs die Temperatur ist. Bei höherer Temperatur braucht man viel kürzere Zeit, wie bei der niederen; so kann man mit Erlickischer Flüssigkeit beispielsweise in einem künstlich auf 40° geheizten Raume ein Rückenmark des Menschen in vier bis fünf Tagen genügend fixieren.

Müllersche Flüssigkeit bei einer Temperatur von 30 bis 40° C., also im Thermostat (siehe § 130), fixiert in *8—10 Tagen.*

Der Flüssigkeit setze man etwas Kampfer zu (gegen Mikroorganismen). Hier wie überall mache man es sich zur Regel, den Boden der Gefäfse mit Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf die zu behandelnden Stücke zu legen.

Für allgemeine Zwecke werden die fixierten Stücke mit oft zu wechselndem, resp. fliefsendem Wasser ausgewaschen, bis sie keine Farbe mehr abgeben, 1—2 Tage, dann in 70%igen Spiritus auf 24 Stunden übertragen, dann in 80%igen.

88. Um die lästigen Niederschläge nach der Fixierung mit Erlickischer Flüssigkeit zu beseitigen, genügt nach Löwenthal ein Einlegen derselben vor Behandlung mit Alkohol in ½%ige Chromsäure oder aber in warmes Wasser oder ein schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser (Edinger).

89. Die oben erwähnten Substanzen eignen sich nicht für das Studium der Kerne, welche stark angegriffen, und deren Bestandteile zum Teil darin gelöst werden. Auch diese Flüssigkeiten werden gegenwärtig viel weniger wie früher gebraucht, spielen aber noch heute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems (siehe § 467 ff.) und des Auges, eine wichtige Rolle.

90. Überosmium-Säure [Osmiumsäure] (wurde von Max Schultze und Rudneff [65] in die Technik eingeführt). Die Osmiumsäure ist sehr teuer, 1 g kostet ca. 3 Mark; sie ist sehr giftig, und die Dämpfe derselben greifen aufserordentlich die Schleimhäute an. Aus der wässerigen Osmiumsäurelösung bewirken die reduzierenden Agentien (auch Sonnenlicht) das Ausscheiden des metallischen schwarzen Osmiums; dieselbe wird deshalb in schwarzen Flaschen aufbewahrt. Die Osmiumsäure ist in hermetisch geschlossenen, gewöhnlich 1 g haltigen Gläsern käuflich.

91. Die Überosmium-Säure wird in einer ½- bis 1-, ja 2%igen wässerigen Lösung angewandt. Gewöhnlich nimmt man eine 1%ige Lösung. Die Osmiumsäure fixiert momentan, dringt aber nicht tief genug in die zu fixierenden Stücke ein; man wähle deshalb möglichst kleine Stücke, denn bei einem gröfseren werden blofs die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa ½ mm tief durch die Osmiumsäure fixiert. Die Osmiumsäure hebt Verschiedenes hervor, indem sie gleichzeitig durch Oxydieren die natürlichen Farben verschiedener Gewebe verschieden verändert. So werden die Kerne schmutzig gelb, elastische Fasern graubraun, Fett und Nervenmark schwarz etc. In einem sehr gut verschlossenen Glase läfst man die Flüssigkeit etwa 24 Stunden einwirken, man spült die Stücke etwa

2 Stunden, auch länger, mit destilliertem Wasser ab und überträgt dieselben direkt in 90%igen Spiritus, wo sie bis zum weiteren Bearbeiten verbleiben.

92. Die Osmiumsäure wird auch in Dampfform angewandt, namentlich, wenn sehr kleine Gewebsteile oder Organismen sehr rasch getötet werden sollen.

Die Osmiumsäure-Räucherung geschieht so, dafs in ein Glas auf den Boden einige Tropfen Osmiumsäure gebracht werden. Man lege das Objekt oder hänge es mit einem Faden in das Glas, so dafs das Objekt selbst von der Osmiumsäure nicht berührt wird, und bedecke das Glas mit einem Glasdeckel.

93. Die mit Osmiumsäure fixierten Objekte lassen nach Flemming auch eine Nachfärbung mit Hämatoxylin oder mit Alaunkarmin zu, besonders schön werden Präparate der Retina.

94. Die Chromsäure wirkt etwas schrumpfend. Dadurch, dafs man versuchte, diese schrumpfende Wirkung durch ein aufquellendes Corrigens aufzuheben, sind die wertvollen Chrom-Essigsäure-Gemische entstanden. Indem man noch eine rasch tötende Flüssigkeit hinzufügte, so bekam man durch Ausprobieren das sehr rasch fixierende und ausgezeichnet konservierende Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch, die sogenannte Flemmingsche Flüssigkeit.

95. Die von Flemming empfohlene **Chrom-Essigsäure** eignet sich namentlich zur Fixierung der achromatischen Fäden. Sie besteht aus:

1/5—1/4 g Chromsäure,
1/10 ccm Eisessig und
100 ccm Wasser.

Die in dieser Flüssigkeit zu fixierenden Stücke dürfen nie 1/2 cm im kleinsten Durchmesser überschreiten. Die Stücke werden ca. 24 Stunden in dieser Flüssigkeit belassen, sie werden 24 Stunden im fliefsenden Wasser abgespült und durch 70%igen und 80%igen Spiritus je 12 Stunden in 90%igen übertragen. Die Färbung für den angedeuteten Zweck wird z. B. mit Hämatoxylin vorgenommen.

96. Eine ausgezeichnete Fixierungflüssigkeit für Kerne und Protoplasmastrukturen ist die **Chrom-Essig-Osmiumsäure-Mischung** von **Flemming** (82 und 95a). Die Formel für diese heifst:

1/4 g Chromsäure,
1/10 » Osmiumsäure,
1/10 ccm Eisessig,
100 » destill. Wasser.

Da die Osmiumsäure nur in 1/2 resp. 1 g enthaltenden, hermetisch verschlossenen Gläsern verkauft wird, so würde man das Fünf- resp. das Zehnfache jeder der genannten Substanzen auf 500 resp. 1000 g Wasser nehmen. Da aber die betreffende Flüssigkeit namentlich bei öfterem Öffnen und Lichteinwirkung sich beim längeren Aufbewahren zersetzt, so ist es nicht unzweckmäfsig, jene Flemmingsche Formel auf eine 1%ige Osmiumsäure-, 1%ige Essigsäure- und 1%ige Chromsäure-Lösung umzurechnen, da diese Reagentien in diesen Konzentrationen in den Laboratorien gewöhnlich gehalten werden, und das so lästige Abwägen und Abmessen kleinerer Quantitäten vermieden wird; und so bekäme man umgerechnet:

10 ccm einer 1%igen Osmiumsäure,
10 » eines 1%igen wässerigen Eisessigs,
25 » einer 1%igen Chromsäure und
55 » Wasser.

Die Anwendung dieser Flüssigkeit ist eine sehr ausgiebige, und zwar für die Gewebe der erwachsenen und sich entwickelnden Tiere. Man braucht nicht sehr viel von der Flüssigkeit beim Fixieren immer kleiner Stücke, nicht über 1/3 cm Seite anzuwenden. Man läfst die Flüssigkeit 24 Stunden, besser längere Zeit, selbst Wochen lang einwirken, wäscht die so fixierten Stücke 24 Stunden in fliefsendem Wasser aus und überführt sie dann durch 70%igen und 80%igen Spiritus, je 24 Stunden angewendet, in 90%igen Spiritus.

97. Die beste Färbung der Schnitte nach dieser Fixation ist die mit Safranin. Alles das, was mit Safranin bei einer bestimmten Anwendung desselben (bei maximalem Auszug) intensiv rot gefärbt bleibt, ist wesentlich Chromatin.

98. Eine stärkere, von Flemming angegebene Lösung ist folgende:

Chromsäure	1%ig	—	15 Vol.
Osmiumsäure	2%ig	—	4 »
Eisessig	. . . .	—	1 »

Die hierfür nötige 2%ige Osmiumsäure mufs auch für andere Zwecke (s. z. B. § 663) vorrätig gehalten werden.

99. Folsche (84) Mischung:

Osmiumsäure	1%ig	2 Vol.
Chromsäure	1%ig	25 »
Eisessig	2%ig	5 »
Wasser		68 »
		100 Vol.

Anwendung wie die der Flemmingschen Lösung.

100. Hermannsche Mischung. Ebenfalls mit ausgezeichnetem Erfolg wendet man Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig (1 % wässerige Platinchlorid-Lösung 15 ccm, 2 % Osmiumsäure 4 ccm und Eisessig 1 ccm) an. Behandlung wie mit Flemmingscher Flüssigkeit (Hermann [93]). Nach dieser, der Flemmingschen Lösung und anderen Osmiumgemischen, kann roher Holzessig in Anwendung kommen. Man läfst die Objekte im letzteren 12—24 Stunden liegen und behandelt mit Alkohol. Es tritt hierbei eine eigentümliche Färbung des Objektes ein, welche eine nachträgliche Färbung desselben oft entbehrlich macht (Hermann [93]).

Von den von vom Rath (95) angegebenen Flüssigkeiten erwähnen wir zwei:

101. Die Pikrinosmium-Essigsäure. Zu 1000 ccm kalt gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 1 g Osmiumsäure und nach einigen Stunden 4 ccm Eisessig zugefügt. Fixierung je nach der Grösse des Objekts $^1/_4$ — 1 oder 24—48 Stunden, dann direkt in 75 %igen Alkohol. Lange färben.

102. Pikrin-Sublimatosmiumsäure: Man gebe zu 100 ccm wässeriger Pikrinsäure 100 ccm Sublimatlösung und dann 20 ccm 2 %ige Osmiumsäure. (Man kann auch noch 2 ccm Eisessig zufügen) Nachbehandlung mit unreinem Holzessig oder Tannin, Entfernung von Sublimatniederschlägen mit Jodalkohol. Lange färben.

103. Sublimat (Hydrargyrum bichloratum, Quecksilberchlorid, 1 Teil löst sich in 16 Wasser, oder 4 Alkohol absolutus oder 4 Äther; Lösungen von Sublimat in Wasser sind haltbarer bei Kochsalzzusatz) wird für gewöhnlich in einer gesättigten Lösung angewandt. Man stellt diese am besten folgendermafsen her: Man nehme etwa 75 g Sublimat auf 1000 Wasser und löse es durch Erwärmen, filtriere die warme Lösung und lasse sie erkalten. Haben sich am Boden des kalt gewordenen Gefäfses weifse Krystallnadeln gebildet, so ist die überstehende Flüssigkeit als eine gesättigte zu betrachten. Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, werden in dieser Flüssigkeit je nach der Gröfse 1 bis 3 Stunden fixiert, hierauf mit 70 %igem Spiritus behandelt 24 Stunden lang, auf ebenso lange Zeit in 80 %igen übertragen und in 90 %igem Spiritus bis zur Bearbeitung aufbewahrt. Da die Lösung eine konzentrierte ist, so kommt es namentlich bei Temperaturschwankungen im Zimmer zur Bildung von Krystallen in den zu fixierenden Stücken. Dabei kommt es niemals zu bemerklichen Zerreifsungen

und Dislokationen in den Geweben. Die Krystalle erscheinen bei durchfallendem Lichte schwarz und verdecken so das Darunterliegende; es ist also wünschenswert, diese Krystalle zu entfernen, ohne dabei die fixierten Gewebe irgendwie zu alterieren. Man thut am besten, wenn man kleine Mengen (einige wenige Tropfen auf 100 ccm) einer Jodtinktur (P. Mayer [87]) (eine gesättigte alkoholische Jodlösung) oder Jodjodkalium in Wasser (s. § 74) zu dem wasserentziehenden Spiritus hinzusetzt. Es darf Jod so lange hinzugesetzt werden, bis die schwachgelbe Farbe der Flüssigkeit nicht mehr schwindet, und zwar kann dieser Zusatz sowohl zu dem 70%igen Spiritus, als wie zu dem nun anzuwendenden 80%igen, als zu dem nach 24 Stunden anzuwendenden 90%igen erfolgen. Die störenden Sublimatkrystalle in den fixierten Stücken (noch besser bei zarten Objekten in Schnitten) werden dadurch entfernt.

Für Sublimat hat man metallene Instrumente zu vermeiden; man verwende Hornlöffel, Glasnadeln und Holzstäbchen.

104. Eine raschere Fixation erhält man bei Anwendung einer mäfsig erwärmten Sublimatlösung. Stärkere Erhitzung auf die Koagulationstemperatur des Eiweifses oder gar bis zum Kochen geben auch für kleinere Objekte weniger gute Resultate, da hier mehr die Temperatur als die Wirkung des Sublimats zur Geltung kommt.

105. Sublimat-Kochsalzlösung; statt Wasser nehme man 0,5% Kochsalzlösung. Anwendung wie Sublimatwasser.

106. Sublimat läfst die meisten Färbungen zu, die Anilinfarben nicht ausgeschlossen; es sind aber namentlich die Färbungen mit Boraxkarmin (s. § 227) und Parakarmin (s. § 231) in ganzen Stücken vor dem Schneiden zu empfehlen.

107. Sublimat-Chromsäure (Lo Bianco). Konzentrierte wässerige Sublimatlösung und 1%ige Chromsäure werden im Verhältnis von 2 Vol. zu 1 Vol. gemischt. Darin wird, je nach der Gröfse des Objekts, 2—4 Stunden fixiert, dann wird mit Wasser abgespült und in 70%igen Alkohol übertragen mit Jodzusatz wie in § 103. Nur für kleine Objekte nicht über 1/3 cm im Durchmesser. Die Methode wird für spezielle Zwecke (siehe das Kapitel über embryologische Technik) angewandt.

108. Zenkersche Flüssigkeit. Zu 100 ccm Müllerscher Flüssigkeit fügt Zenker (94) 5 g Sublimat und 5 ccm Eisessig. Die Stücke werden in diesem Gemisch mindestens 24 Stunden belassen, mit fliessendem Wasser aus-

gewaschen und allmählich in starken Alkohol übergeführt. Die Zenkersche Flüssigkeit soll sehr leicht in die Gewebe eindringen und Kern- und Protoplasmastrukturen gleich gut fixieren, ohne hierbei das Färbungsvermögen der Elemente zu beeinträchtigen. Siehe auch Mercier (94).

109. Eine **3- bis 5%ige Salpetersäure** (gemeint ist Acidum nitricum purissimum mit 70% Säuregehalt und mit 1,40 spezifischem Gewicht) auf kleine Stücke angewandt, liefert, sehr Gutes. Man fixiere nicht über sechs Stunden und übertrage die Objekte in 70%igen Spiritus, welcher nach 24 Stunden mit 80%igem und nach abermals 24 Stunden mit 90%igem vertauscht wird.

Stärkere Lösungen, namentlich wenn sie längere Zeit einwirken, lösen das Chromatin.

110. Kalt gesättigte wässerige **Pikrinsäure**-Lösung (es löst sich ungefähr $^3/_4$ g Pikrinsäure in 100 ccm kalten Wassers) allein kann mit Erfolg für kleinere und auch mittelgrofse Objekte als Fixierungsflüssigkeit angewandt werden. Man kann sie je nach der Gröfse des Objektes einige Tage und selbst Wochen wirken lassen, auswaschen mit Wasser, Alkohol. Färbung mit Hämatoxylin, Karmin u. s. w.

Pikrinsäure (allein oder in Kombination mit Überosmiumsäure) wurde zuerst von Gasser (78) empfohlen.

Bei Pikrinsäurefixierung erscheinen die Zellkontouren resp. Zellgrenzen sehr deutlich.

111. Für Organe, die nicht viel Bindegewebe enthalten, ist die **Pikrin-Schwefelsäure von Kleinenberg** (76) resp. die **Pikrin-Salpetersäure von Paul Mayer** (81) mit Erfolg anzuwenden. Die erstere Flüssigkeit wird in folgender Weise dargestellt: Man nimmt eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser und bringt 1 Volumen konzentrierte Schwefelsäure in 100 Pikrinsäure, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit zweifachem Volumen Wasser versetzt.

Die Pikrin-Salpetersäure wird in der Weise bereitet, dafs man zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure zusetzt; es bildet sich nach und nach ein Niederschlag, der durch Filtrieren entfernt wird. Die so gewonnene Flüssigkeit ist nun zum Gebrauche fertig.

Es werden möglichst kleine Stücke, auf keinen Fall über $^1/_2$ cm Seite in einer der beiden zuletzt genannten Flüssigkeiten nicht über 3 Stunden belassen. Die intensiv

gelb gewordenen Stücke werden mit oft zu wechselndem 70-, 80- und 90%igem Spiritus je 24 Stunden gewaschen, bis die gelbe Farbe fast vollständig verschwindet. Man färbt mit besonderem Erfolg Schnitte, so fixierten Präparaten entnommen, mit Hämatoxylin.

112. Pikrinsublimat. Rabl (94) empfiehlt folgendes Gemisch:

konz. wässerige Sublimatlösung . .	1 Vol.
» » Pikrinsäurelösung .	1 »
Aqua dest.	2 »;

Fixierung 12 Stunden; dann ein paar Stunden in Wasser, dann in Alkohol von anfangs schwacher, jedoch rasch ansteigender Konzentration, sodafs das Präparat schon nach etwa 24 Stunden in starkem, 80—90%igem Alkohol liegt. Jodtinkturzusatz zum absoluten Alkohol (speziell für Embryonen, namentlich ältere, auch für Keimscheiben).

113. Die Perenyische (82) Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung:

Salpetersäure von 10% . . .	40 ccm,
abs. Alkohol	30 »
wässerige Chromsäure von 1/2%	30 »;

sie fixiert kleine Objekte in wenigen Stunden; Auswaschen in 70%igem Spiritus.

Für die Fixation sowohl chromatischer wie achromatischer Figuren hat Rabl (85) folgende zwei Flüssigkeiten empfohlen:

114. Die Chromameisensäure wird in der Weise bereitet, dafs man zu

100 ccm einer 1/3%igen Chromsäurelösung
2—3 Tropfen Ameisensäure

zusetzt. Möglichst kleine Stücke werden, auf 12—24 Stunden in diese Flüssigkeit gebracht, ebenso lange Zeit mit Wasser gewaschen. Dann werden sie in 60 bis 70%igen Spiritus auf 24—36 Stunden übertragen und kommen direkt in absoluten Alkohol. (Die chromatischen Figuren quellen in dieser Lösung etwas auf.)

115. In analoger Weise für dieselben Zwecke wird eine 1/3%ige Platinchloridlösung angewandt. Sie wird weder durch Licht noch Wärme reduziert. (Dieses Fixierungsmittel bewirkt eine geringe Schrumpfung in den chromatischen Fäden.)

116. Platinchloridsublimat Rabl (94):

Platinchloridlösung 1%ig	1 Vol.
Sublimatlösung konz. wässerige . .	1 »
Aqua destill.	2 »

Behandlung wie bei Pikrinsublimat (siehe § 112).

Grofse Quantitäten Fixierungsflüssigkeit! Geeignet besonders für Embryonen.

117. Formol, eingeführt von F. Blum und von dessen Vater in die Konservierungspraxis (das käufliche Formol enthält 40 % Formaldehyd), wird meist in der Koncentration von 1 Volumen Formol auf 10 Volumina Wasser angewandt. Man lege kleine Stücke auf ca. 6—8 Stunden ein, übertrage sie dann sofort in absoluten Alkohol. Blum F. (93 und 96). Doch ist noch nicht festgestellt, in welcher Weise angewandt Formol die besten Resultate für histologische Zwecke ergibt, so empfehlen z. B. Andere in unverdünntes Formol 1 bis 2 Stunden einzulegen (auch grössere Stücke) und erst in 70%igen, dann absoluten Alkohol zu übertragen.

Formol ist auch deshalb von besonderem Wert, weil Präparate, welche mit der Golgischen (siehe § 488) oder Weigertschen (siehe § 500) Methode behandelt werden sollen, in Formol vorher längere Zeit aufbewahrt werden können.

118. Betreffend die Darstellung histologischer Feinheiten mit Lysol in 10%iger Lösung (event. Lysol 10, Aq. 60, Alk. 30; oder Lysol 10, Aq. 50, Alk. 30, Glycerin 10) an frischen Geweben (Spermatozoen, Haare, Auge, Niere, Epithelzellen, glatte und quergestreifte Muskelfasern, Nerven, Bindegewebe, hyaline Knorpel, Knochen, verhornter Epithelien) verweisen wir auf Reinke (93).

2. Kapitel.

Durchtränkung.

119. Fixierte Objekte besitzen nicht immer die zum Schneiden nötige Konsistenz, manche sind zu zart, als dafs man sie überhaupt mit der Hand anfassen könnte. Man emanzipiert sich daher von der Konsistenz des Objekts, indem man dasselbe mit einem Medium durchtränkt, welches nachher erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Durchtränkungsmasse allein, vorausgesetzt, dafs das Objekt nicht härter als die Durchtränkungsmasse ist. Die gebräuchlichsten Durchtränkungsmassen sind Paraffin und Celloidin.

120. Die **Paraffindurchtränkung** hat so zu geschehen, dafs alle kleinsten Bestandteile des Objekts, also Zellen und Kerne, von Paraffin durchdrungen sind in derselben Weise wie vorher von Alkohol.

Würde man nun einfach das Objekt aus dem Alkohol *in geschmolzenes* Paraffin übertragen und dann das Ganze

erstarren lassen, so würde das Paraffin nicht eindringen, da es sich mit Alkohol nicht mischt, das Stück würde nur eingeschmolzen, aber nicht durchschmolzen oder durchtränkt. Man hat daher, ehe man das Objekt ins Paraffin bringt, dasselbe in eine Flüssigkeit zu bringen, welche sich einerseits mit Alkohol, andrerseits mit Paraffin mischt.

121. Solcher gibt es eine ganze Reihe, z. B. Toluol, Xylol, Chloroform, dann verschiedene Öle, Terpentinöl, Bergamottöl (ist teuer), Zedernholzöl. Über die Eigenschaften der letzteren vergleiche Neelsen und Schiefferdecker (82).

Soweit diese Flüssigkeiten, vor allem Toluol, Xylol, Chloroform eines für das andere angewandt werden können, sprechen wir der Einfachheit halber, in der Regel nur von **Xylol.**

122. Es ist zu beachten, dafs sich Xylol mit Wasser nicht mischt, es darf daher das Objekt nicht aus dem 90%igen Alkohol in Xylol gebracht werden, sondern es mufs erst wasserfrei gemacht werden durch **absoluten Alkohol.**

Der im Handel käufliche absolute Alkohol ist meist nur 98—99%ig. Wasserfrei kann derselbe gemacht werden durch Einlegen von pulverisiertem, geröstetem Kupfervitriol in denselben.

Letzterer ist im Handel käuflich und wird in kleine Leinwandsäckchen mit Faden eingebunden oder eingenäht; derartige Kupfervitriolsäckchen legt man in die Gefäfse, in welchen absoluter Alkohol aufbewahrt wird. Diese Gefäfse müssen stets gut verschlossen sein, da der absolute Alkohol auch Wasser aus der Luft aufnimmt.

123. Um das Eindringen der verschiedenen Stoffe zu einem allmählichen und dadurch die Operation zu einer weniger eingreifenden zu machen, bringt man die Objekte aus dem Xylol nicht direkt in reines Paraffin, sondern zunächst in eine **Mischung** von mehr Xylol und weniger Paraffin. Stellt man die Mischung in einen Thermostat (siehe § 130) von 50—55° C., so verdunstet allmählich das Xylol im Verlauf einiger Stunden, so dafs fast reines Paraffin bleibt. Ganz rein wird dasselbe jedoch nicht; es mufs daher das Objekt zum Schlufs noch in **reines Paraffin** auf einige Stunden übertragen werden.

124. Paraffinsorten. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden will, benutzt man Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten, bei niederer Temperatur zu 50° C., bei höherer zu 55° C.

Man thut gut, mit verschiedenen Paraffinsorten von verschiedenen Schmelzpunkten zu arbeiten und diese zu mischen.

Man nimmt als weichste Sorte ein Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt, als härteste ein solches von 55—60° Schmelzpunkt. Je nachdem man von dem einen mehr oder weniger als von dem andern nimmt, erhält man durch Probieren ein Paraffin, das bei der gewünschten Temperatur flüssig wird.

125. Graf Spee (85) empfiehlt überwärmtes Paraffin, namentlich für Bänderschneiden (siehe § 174) zu verwenden. Darstellung: Paraffin von 50° C. Schmelzpunkt wird in einer offenen Porzellanschale über einer Spiritusflamme geschmolzen und dann weiter erhitzt, bis es, je nach der Quantität, in ein bis sechs Stunden unter Entwickelung unangenehm riechender weifser Dämpfe, geringer Reduktion seines Volumens und Erhöhung seines Schmelzpunktes um einige Grade eine braungelbe, dem gelben Wachs oder Honig ähnliche Farbe angenommen hat. (Dieses Paraffin erhält man auch durch Grübler in Leipzig.)

126. Die Zeitdauer, welche das zu durchtränkende Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Gröfse des Stückes. Am längsten mufs es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück ganz wasserfrei zu machen, und in der Mischung Xylol-Paraffin, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Xylols herbeizuführen.

Die Zeit, welche sich für Stücke verschiedener Gröfse als Optimum empfiehlt, ist in Stunden:

	Kleine Objekte unter 1 mm Seite	Mittlere Objekte bis 5 mm Seite	Grofse Objekte über 5 mm Seite	Sehr grofse Objekte
Absol. Alkohol	2	6	24	längere Zeit, aber auf Kosten der Güte.
Xylol . . .	½	2—3	3—4	
von jetzt an weiter im Thermostat				
Xylol-Paraffin	1	4	6	
Paraffin . . .	½	2	3—4	

Der Aufenthalt im Thermostaten schadet nicht, vorausgesetzt, dafs die Entwässerung eine gute war, und dafs die Objekte nicht allzulange darin verbleiben.

127. Es ist nicht Bedingung, dafs der Prozefs des Durchtränkens zeitlich ununterbrochen verlaufe, man kann z. B. in reines Paraffin gelegte Stücke abends aus dem Thermostat herausnehmen, um sie morgens wieder hineinzustellen. Dies verdient jedenfalls den Vorzug gegenüber dem Verfahren, dafs die Stücke über Nacht im Thermostat verbleiben und so *vielleicht* Schaden nehmen könnten.

128. Will man den Vorgang sehr allmählich und gleichmäfsig machen, so kann man, anstatt das Objekt aus Xylol in die Mischung überzuführen, dem Xylol Stücke ungeschmolzenen Paraffins zusetzen. Dieses wird schmelzend sich allmählich dem Xylol beimischen, während das Xylol verdunstet. Sehr zarte Objekte kann man schonend aus dem absoluten Alkohol in Xylol überführen, indem man Xylol zu Alkohol allmählich zusetzt.

129. Selbstverständlich kann man an Stelle des Xylols andere (in § 121 genannte) paraffinlösende Flüssigkeiten verwenden. Besonders geeignet ist hierfür Chloroform. Man bringt das Objekt aus absolutem Alkohol in Chloroform. Zunächst schwimmt hier das Objekt an der Oberfläche, allmählich, indem sich Chloroform an die Stelle des Alkohols setzt, sinkt es zu Boden. Dann wird entsprechend weiter verfahren: Chloroform-Paraffinmischung, reines Paraffin.

130. Als **Thermostat** dienen doppelwandige Kästen, welche vorn eine Glasthüre besitzen. Der Raum zwischen den doppelten Wänden wird mit Wasser oder Glycerin gefüllt. Heizung am besten mit Gas. Zahlreiche Firmen liefern solche Wärmekästen. Ein Regulator vermindert oder vermehrt den Gaszufluſs, wenn die Temperatur, deren Höhe im Innern des Kastens ein Thermometer anzeigt, von der gewünschten abweicht.

Ein hübscher Apparat, der unter dem Namen »Neapler Wasserbad« zu beziehen ist, ist vielleicht deshalb nicht für alle Zwecke ausreichend, da in demselben die aufgestellten Paraffinnäpfchen etc. nur von unten erwärmt werden.

131. Der **Regulator** besteht in einfachster Form aus 2 Glasröhren, welche ineinander geschoben sind, ohne sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen, durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre reicht nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber, gefüllt. In dieses taucht man, wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschliefsen, so dafs weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschluſs der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche ein sehr geringes Ausströmen des Gases stets gestattet.

132. Ist so das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so wird es in eine Form gegossen, „**eingebettet**".

Die Form mufs mit Glycerin in dünner Schicht ausgestrichen sein, damit sich das Hineingegossene, nachdem es erstarrt ist, wieder leicht herausnehmen läfst.

Als Form dienen für mittelgrofse Objekte zwei auf eine Glasplatte aufgestellte Winkel. Dies sind unter rechtem Winkel gebogene Metallplatten von Messing oder Schriftmetall, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine gröfsere oder kleinere Form geben.

Vielfach werden als Form Papierkästchen oder Stanniolkästchen benutzt, wie sie sich jeder leicht selbst anfertigt.

Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form.

133. Das Verfahren ist folgendes. Nachdem die Form mit der den Boden bildenden Glasplatte gut mit Glycerin ausgestrichen ist, wird ein Spatel (eine Platte mit Stiel, erstere gewöhnlich aus vernickeltem Blech, die besten fertigt man aus Platin) und eine Nadel über der Spiritusflamme leicht erwärmt, Paraffin in die Form gegossen und das Objekt mit dem erwärmten Spatel übertragen. Das Objekt wird dann orientiert, d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht, in der es nachher geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig geworden ist, eine solche erschwert, bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis das Paraffin ein Häutchen bekommt, was man durch Anblasen desselben befördern kann. Dann wird die ganze Form in kaltes Wasser gebracht, um ein möglichst rasches Erstarren herbeizuführen. Letzteres ist notwendig, da das langsam erstarrte Paraffin nicht so homogen wird und sich nicht so gut schneidet, wie das rasch erstarrte.

Nach etwa 30 Minuten langem Liegen in kaltem Wasser sind mittelgrofse Stücke erstarrt und können aus der Form genommen werden.

134. Die Durchtränkung mit Kollodium ist von **Duval** in die mikroskopische Technik eingeführt worden. **Schiefferdecker** (82) hat als Ersatz dafür **Celloidin** empfohlen. Das Durchtränken mit Celloidin, wie es heute geübt wird, ist bei grofsen Stücken (2 cm Seite und darüber) vorzunehmen, aber auch bei kleineren, die aus Geweben verschiedener Konsistenz bestehen oder zu hart sind, um in Paraffin geschnitten zu werden: Epidermis, entkalkter Knochen, dicke

Schichten glatter Muskulatur. Für Erforschung der centralen nervösen Organe mit Weigertschen Methoden ist Celloidin stets dem Paraffin vorzuziehen. Mit Celloidin durchtränkte Stücke lassen sich nur angefeuchtet und nicht so dünn, wie die mit Paraffin durchtränkten, schneiden.

Man stelle drei Lösungen dar: 1. Celloidin konzentrierte Lösung in absolutem Alkohol und Schwefeläther zu gleichen Teilen von der Konsistenz eines dicken Syrups; ein Teil dieser Lösung wird auf das doppelte Volumen mit Äther verdünnt, Lösung 2; ein Teil der Lösung 2 wird abermals auf das zweifache Volumen mit Äther verdünnt, Lösung 3.

Objekte, die mit Celloidin durchtränkt werden sollen, kommen aus dem absoluten Alkohol in Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen, worin sie nicht lange, höchstens 24 Stunden, belassen werden. Hieraus kommen die Stücke auf 2 bis 3 Tage in die 3. Lösung, aus dieser in die zweite auf ebenso lange Zeit und aus der 2. in die 1. Lösung auf 2 Tage. Es werden nun die Stücke in dieser letzteren Lösung eingebettet, und zwar in der Weise, dafs man die Stücke in eine Papierschachtel mit einer genügenden Menge konzentrierter Celloidinlösung giefst; die Oberfläche wird nach wenigen Stunden fester durch Verdunstung des Äthers und Alkohols, worauf man die Schachtel vorsichtig in 80%igen Alkohol überträgt, worin die definitive Härtung des Ganzen in etwa 24 Stunden erfolgt, man entfernt das Papier, isoliert das zu schneidende Stück mit etwas Celloidin durch Abtragen des überflüssigen Celloidins mit dem Messer in dünnen Lamellen, das Stück kann vor dem Schneiden mit der Lösung 1 auf Holz oder Kork befestigt (angeklebt) werden; vor dem Ankleben legt man das Stück in Alkohol absolutus auf 5 Minuten, um die oberflächlichste Celloidinschichte aufzuweichen. Man kann das betreffende Stück auch, indem man es aus der Celloidinlösung nimmt, auf einem Holz- oder Korkklotz mit dem Finger festdrücken oder mit Nähfaden u. dgl. festbinden. Ist das Celloidin unter einer Glasglocke nach einigen Stunden härter geworden, so überträgt man das Ganze (Kork und Präparat) in ein mit 80%igem Alkohol gefülltes Gefäfs und sorgt dafür, dafs das ganze Präparat unter dem Spiritus liegt, was man am besten dadurch erzielt, dafs man das Gefäfs mit Flüssigkeit ganz auffüllt; in diesem Falle, nachdem das Gefäfs zugepfropft ist, liegt das Präparat sicher unter der Flüssigkeit und bleibt in derselben

ein paar Tage, worauf entweder gleich geschnitten werden kann, oder die Präparate werden bis zur Verwendung in 70%igem Spiritus aufgehoben.

135. An Stelle von Celloidin kann man sich auch für manche Zwecke Photoxylins bedienen, welches sich vielleicht etwas weniger gut schneidet, aber durchsichtiger bleibt und so die Orientierung beim Schneiden erleichtert.

136. Für die Beurteilung der später einzuschlagenden Operationen (siehe § 181) behalte man im Auge, dafs Celloidin in starkem Alkohol und namentlich in absolutem leicht löslich ist. Sehr viele ätherische Öle, in erster Linie das viel gebrauchte Nelkenöl, lösen Celloidin, dagegen nicht Bergamottöl, Origanum-Öl, Cedernholzöl. Neelsen und Schiefferdecker (82).

137. Um die Vorteile, welche Celloidin und Paraffindurchtränkung bieten, zu vereinigen und womöglich die Fehler beider zu vermeiden, hat man versucht, ein Objekt zunächst mit Celloidin und das so gewonnene Stück nachträglich noch mit Paraffin zu durchtränken. Celloidin-Paraffindurchtränkung.

Zu empfehlen für sehr zarte Objekte, für welche in Xylol und Thermostat ein Schrumpfen befürchtet wird.

Die Methode besteht darin, dafs man sich zuerst folgende Lösungen anfertigt:

Eine Mischung gleicher Teile absoluten Alkohols und Äthers: Alkoholäther.

Eine gesättigte Lösung von Celloidin in Alkoholäther: Urlösung.

Aus der Urlösung, welche nicht direkt zum Durchtränken, sondern nur zum Anfertigen der Lösungen gebraucht wird, bereite man sich:

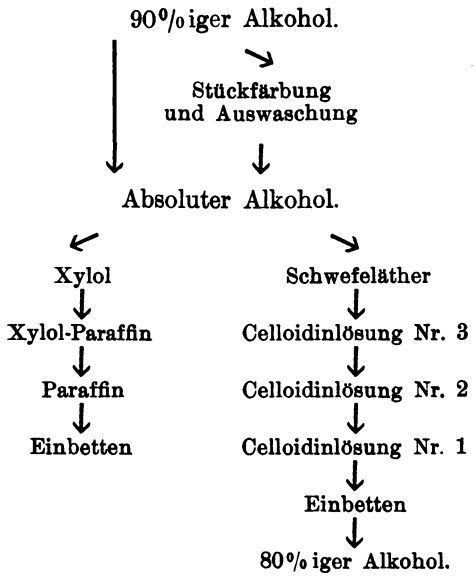
1. Urlösung und zwei Teile Alkoholäther,
2. ein Teil der Lösung 1 verdünnt mit zwei Teilen Alkoholäther,
3. ein Teil der Lösung 2 verdünnt mit zwei Teilen Alkoholäther.

Das Objekt kommt aus 90%igem Alkohol je 24 Stunden in absoluten Alkohol, dann in Alkoholäther, in Lösung 3, in Lösung 2, schliefslich in Lösung 1; in letzterer wird das Objekt eingebettet (24 Stunden offen oder halb zugedeckt stehen lassen). Die ausgeschnittenen Celloidinplättchen kommen in 70%igen Alkohol 24 Stunden, dann in 90%igen 12 Stunden. Darauf bringt man sie in eine Mischung von Origanumöl und 1/3 Volumen 90%igen Alkohol, dann nur kurze Zeit (einige Stunden) in reines Origanumöl, nun in Origanumöl und 1/3 Volumen Xylol, in reines Xylol, weiter im Thermostat: Xylol-Paraffinmischung, reines Paraffin, Einbetten wie oben (§ 132 ff.) *Kultschizky* (87a).

138. Um dünnere Schnitte zu gewinnen, empfiehlt es sich, vor jedem Schnitt die Schnittfläche mit einer dünnen Kollodiumschicht, auch Paraffin, zu überstreichen, diese erstarren zu lassen und dann zu schneiden. Dieses Verfahren kann auch für Paraffinschnitte angewandt werden.

139. Field und Martin (94) empfehlen eine Methode, gleichzeitig mit einer Mischung von Celloidin und Paraffin zu durchtränken.

140. Schema für Durchtränkung.



Weitere Literatur zu Kapitel 2: Blochmann (84).

3. Kapitel.

Mikrotom.

141. Um das Schneiden von der geringeren oder gröfseren Geschicklichkeit des einzelnen unabhängig zu machen, wurde eine Reihe von Apparaten konstruiert, welche den Namen **Mikrotom** führen. Diese Apparate, sehr verschieden gebaut, haben das gemeinschaftlich, dafs das Präparat durch eine Vorrichtung nach jedem Schnitt um

so viel gehoben wird, als die Dicke des nächsten Schnittes betragen soll. Dies wird erreicht z. B. bei dem Jungschen Mikrotom durch eine schiefe Ebene, auf welcher das Präparat bewegt wird, während das Messer in derselben Ebene bleibt, bei anderen z. B. dadurch, dafs das Präparat direkt durch eine Mikrometerschraube, auf der es befestigt ist, gehoben wird. Bedingung ist nun für das Schneiden, dafs stets nur so viel durch das Messer weggenommen wird, als das Objekt eben gehoben wurde. Dies geschieht bei manchen Mikrotomen dadurch, dafs das durch die Hand geführte Rasiermesser einer festen Unterlage aufliegt, welche verhindert, mehr wegzunehmen, als was eben über diese Unterlage hervorragt. Bei anderen Mikrotomen ist das Messer an einem Block befestigt, welch letzterer auf Schienen bewegt werden kann. Das Messer beschreibt so bei jeder Bewegung wieder denselben Weg und nimmt jedesmal das, um was das Objekt gehoben wurde, weg. Die letzteren sind die sogenannten **Schlittenmikrotome.**

Wieder bei anderen Mikrotomen steht das Messer fest, und das Objekt wird durch einen Hebel an demselben vorbeibewegt.

Beschreibung einiger Mikrotome.

142. Das Ranviersche Mikrotom besteht aus einer Platte, über welche ein Rasiermesser mit der Hand weggeführt wird. In der durchbohrten Mitte trägt dieselbe ein Loch, welches in einen Hohlcylinder führt, darin steckt das Objekt. Was über die Platte hervorragt, wird abgeschnitten. Die Vorwärtsbewegung des Objekts geschieht durch eine Mikrometerschraube, welche, mit einer Platte versehen, in dem Cylinder steckt und das Objekt schiebt. Dieses Mikrotom genügt nur für die einfachsten Zwecke.

Ein vorzügliches Schlittenmikrotom baut Jung in Heidelberg. Dieses liegt der nun folgenden Beschreibung zu Grunde.

143. Bestandteile des Jungschen (nach Prof. Thoma) **Mikrotoms.**

Das Stativ desselben ist aus vier Metallplatten zusammengesetzt. Die erste liegt als Fufs auf dem Tisch, senkrecht zu derselben ist auf derselben eine zweite befestigt. An den beiden Seiten der senkrechten verläuft je eine Platte unter einem nach oben offenen spitzen Winkel. In diesen beiden Winkeln kann jederseits ein schwerer metallener Keil eingesetzt werden. Diese füllen den Winkel genau *aus und* können auf an den Platten befindlichen Schienen

verschoben werden. Die Keile laufen, um die Reibung zu vermindern, auf Knöpfen. Diese Keile werden Schlitten genannt. Rechts befindet sich der das Messer tragende Schlitten, der **Messerschlitten,** links der das Objekt tragende **Objektschlitten.**

144. Das Messer wird am **Messerschlitten** in zum Tisch wagrechter Richtung durch eine Schraube befestigt.

Die neueren Messerschlitten tragen meist mehrere Bohrungen zur beliebigen Befestigung des Messers.

145. Zu empfehlen sind Messerhalter, welche in die Schraube eingespannt werden können. Das Messer kann im Messerhalter in verschiedenen Stellungen durch Klemmschrauben befestigt, und dadurch die ganze Länge der Schneide ausgenutzt werden. Es ist dann möglich, wenn eine Stelle des Messers nicht mehr gut schneidet, dasselbe zu verschieben.

146. Die Messer, welche ohne Messerhalter befestigt werden sollen, besitzen an ihrem Ende einen Griff, in welchen die Halteschraube paſst.

147. Der **Objektschlitten** trägt den Objekthalter. Der Objekthalter ist eine Klammer, welche an einem Stift durch die Halteschraube höher oder tiefer gestellt werden kann. In dieser Klammer wird das Objekt resp. der Kork oder Holzklotz, auf welchem dasselbe aufgeklebt ist, durch eine Schraube befestigt, »eingespannt«. Eine Gegenschraube gestattet, die Klammer, welche auch noch durch eine starke Feder geschlossen wird, zu öffnen.

148. An Stelle der eine Klammer tragenden Objektschlitten wurden solche konstruiert, welche eine Drehung des Objekts nach allen Seiten und Feststellung desselben in einer beliebigen Lage gestatten: Orientierungsapparate. Ein solcher ist für feinere, speziell embryologische Untersuchungen unentbehrlich.

Der Orientierungsapparat des Jungschen Mikrotoms besteht aus zwei in einander befindlichen Rahmen, welche um zwei auf einander senkrecht stehende Achsen durch Schrauben bewegt werden und in jeder beliebigen Stellung festgestellt werden können.

Im inneren Rahmen kann ein Cylinder festgestellt werden, auf welchen das Objekt aufgeschmolzen wird. Der Cylinder, mit ihm das Objekt, kann gehoben oder gesenkt werden, auch ist er um seine Längsachse drehbar.

149. Wird nun der Messerschlitten bei ruhigstehendem Objektschlitten durch die Bahn geführt, so wird er ein über Messerhöhe hervorragendes Stück des Objekts abschneiden. Nun wird der Messerschlitten zurückgeschoben. Die Bahn

des Messerschlittens ist überall in gleicher Höhe vom Tisch entfernt. Die Bahn des Objektschlittens steigt dagegen allmählich an: wird daher der Objektschlitten etwas vorwärts geschoben, so steht das Objekt etwas höher, es wird demnach, wenn der Messerschlitten wieder durch die Bahn bewegt wird, ein Schnitt abgeschnitten u. s. f.

Eine einfache Überlegung zeigt sofort, dafs der vielleicht auftauchende Gedanke, es könnte sich hier nicht um plattenförmige Schnitte, sondern um keilförmige handeln, unrichtig ist.

150. Die Bewegung des Objektschlittens erfolgt durch eine Mikrometerschraube, welche ein eigener Schlitten, der Mikrometerschraubenschlitten, führt. Dieser Schlitten befindet sich in der Objektschlittenbahn und wird dem Objektschlitten näher geschoben, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt. Die Spitze der Mikrometerschraube ruht dann auf einer eigenen Platte des Objektschlittens. Dann wird der die Mikrometerschraube tragende Schlitten mittels einer Halteschraube befestigt.

Wird nun die Mikrometerschraube um ein bestimmtes gedreht — wie weit, kann an einer an derselben befindlichen Trommel abgelesen werden —, so wird der Objektschlitten um ein bestimmtes vorgeschoben, das Objekt um ein bestimmtes gehoben, und aus der Gröfse der Drehung der Mikrometerschraube ergibt sich nach ihrem, für jedes Mikrotom bestimmten Umdrehungswert die Schnittdicke. Diese beträgt für das Jungsche Mikrotom für eine Umdrehung der Mikrometerschraube 15 μ.

151. Diese Mikrometerschraube hat, wie aus dem Angeführten hervorgeht, eine andere Bedeutung, als die Mikrometerschraube, wie sie bei anderen Mikrotomen (z. B. § 158) angewandt wird, indem letztere das Objekt direkt hebt.

152. Eine Skala mit Nonius, an der abgelesen werden kann, wie weit der Objektschlitten vorgeschoben wurde, und nach der unter Berücksichtigung der Steigung der Bahn die Schnittdicke berechnet werden kann, bleibt an den neueren Jungschen Mikrotomen weg.

153. Für die Mikrotome wurden besondere Messer konstruiert von Keilform. Die über das Präparat weggleitende Seite des Messers ist eben geschliffen, die obere hohl.

154. Beim Abziehen, wozu besonders konstruierte Riemen geliefert werden, lege man die Hohlseite des Messers ganz auf, dasselbe berührt dann mit Schneide und Rücken*kante den Riemen.*

Die Messer sind nicht wie die Mikrotome durch Ölen (siehe § 161) vor dem Rosten zu schützen, vielmehr bediene man sich dazu des Paraffins. Mit einem Stück reinen Paraffins reibt man die ganze Fläche des Messers ein.

Um das Rosten zu verhüten, halte man die Messer in Etuis und bewahre sie wie die Mikrotome vor Berührung mit Säuren und Feuchtigkeit.

Nebenapparate des Jungschen Mikrotoms:

155. Gefrierapparat. Derselbe wird am Jungschen Mikrotom am Objektschlitten befestigt in ähnlicher Weise, wie der Objekthalter und an Stelle desselben. Er besteht aus einer Platte von Metall, auf welche das Objekt gelegt wird; gegen ihre Unterseite wird durch ein Gebläse Äther zerstäubt. Hierdurch wird die Platte stark abgekühlt, und das Objekt friert an. Ist dasselbe fest gefroren, so wird in der gewöhnlichen Weise geschnitten.

Nach Benutzung des Gefrierapparates ist eine besonders genaue Reinigung und Ölung des Mikrotoms erforderlich, um Rosten desselben zu verhüten.

Es empfiehlt sich, beim Schneiden viel Flüssigkeit, z. B. $^1/_3$%ige wässerige Chromsäure oder physiologische Kochsalzlösung, auf das Messer (nicht auf das Objekt) zu bringen, in welcher dann der Schnitt schwimmt. Dadurch wird das Aufrollen desselben leicht verhindert.

156. Um den Druck der Hand bei Führung des Messerschlittens auszuschalten, kann an demselben ein tischwärts ragender Zapfen angebracht werden.

157. An manchen Jungschen Mikrotomen laufen die Schlitten statt auf Metallknöpfen auf Elfenbeinfüfschen.

158. Das **Schanzesche** Mikrotom besteht aus einem Messerschlitten, ähnlich dem beim Jungschen beschriebenen. Die Hebung des Objektes geschieht in ähnlicher Weise, wie beim Ranvierschen, durch eine Mikrometerschraube mit geteilter Scheibe zum Ablesen. Dieses Mikrotom wird jetzt noch mit einer Reihe von Neuerungen angefertigt, z. B. einem Orientierungsapparat, einer Tauchwanne für Nafsschneiden.

Auch werden bei derartigen Instrumenten die Schienen aus Glas hergestellt, sie können bei Beschädigung weggenommen und durch andere ersetzt werden. Vorzügliche derartige Instrumente liefert Becker in Göttingen.

159. Die vorzüglichen von Katsch in München angefertigten Schlittenmikrotome zeichnen sich durch eine grofse Hubhöhe vorteilhaft aus und gestatten so, grofse Objekte in ununterbrochener Serie zu schneiden.

160. Weitere, z. B. die kleinen **automatischen Mikrotome** und das grofse Reinhold-Giltaysche Mikrotom sind Systeme, welche sich bei uns noch nicht so eingebürgert haben, wie die Schlittenmikrotome.

Schneiden mit dem Jungschen Mikrotom.

161. Ölen. Die Schienen der Schlittenbahnen des Mikrotoms werden vor dem Gebrauch gesäubert und mittels eines Pinsels mit einer dicken Ölschicht überzogen. Es empfiehlt sich hierfür:

4 Teile Knochenöl auf
1 Teil Petroleum.

Die Prozedur des Ölens erfordert eine besondere Sorgfalt, da sie die Vorbedingung des ruhigen Ganges des Schlittens ist. Geht der Schlitten schwer, was bald, stets nach 24 Stunden der Fall ist, besonders, wenn man das Mikrotom nicht vor Staub schützt, indem man es z. B. mit einem Glassturz bedeckt, so darf nicht sofort neues Öl aufgetragen werden, sondern es müssen sorgfältig die Schienen der Schlittenbahnen mit einem Tuche gereinigt werden, dann erst ist frisches Öl aufzutragen.

Die Ölschicht mufs eine dicke sein, so dafs der Messerschlitten, dessen Bahn beim Ölen besonders zu berücksichtigen ist, leicht mit dem Finger angestofsen, von selbst durch die Bahn läuft.

Laufen die Schlitten auf Glasschienen (siehe § 158), so wird nicht geölt.

162. Einspannen des Objekts. Das in Paraffin eingebettete Objekt (siehe § 132) wird mit einem Messer als Würfel ausgeschnitten, dann schneidet man von 5 Seiten des Stücks möglichst viel überflüssiges Paraffin weg. Mit der sechsten Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objektschlittens passendes Stück harten Paraffins, Kork oder Holz aufgeschmolzen. Letzteres geschieht in der Weise, dafs man mittels eines an der Flamme erhitzten Drahtes das Paraffin schmilzt und dann das Stück rasch auflegt. Etwaige Unregelmäfsigkeiten werden noch mit dem heifsen Draht geebnet und das Stück für zehn Minuten in kaltes Wasser gebracht.

163. Fixierte Stücke können auch undurchtränkt, jedoch feucht geschnitten werden, vorausgesetzt, dafs sie hierfür hart genug sind. Dieselben werden auf einem Kork oder Holzstück mittels Gummi befestigt Stück und Block werden einige Zeit mit der Hand zusammengehalten und kommen *dann, um* den Gummi zum Erstarren zu bringen, in Alkohol.

Nun wird das Ganze, in den Objekthalter fest eingeschraubt, eingespannt.

164. Am Messerschlitten wird das Messer so befestigt, dafs seine Längsachse einen spitzen Winkel zu der Längsachse des Mikrotoms bildet.

165. Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so dafs Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind. Beim Einspannen des Objekts mufs besonders darauf geachtet werden, dafs von der Gegenschraube kein falscher Gebrauch gemacht wird.

166. Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, dafs die nach oben gerichtete Seite desselben möglichst genau die Höhe des Messers hat. Das Messer wird versuchsweise über das Objekt weggeführt, eventuell der Objektschlitten noch wenig verschoben, bis das Messer fafst.

167. Grundregel ist: Niemals dürfen dicke Scheiben mit dem Mikrotommesser abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Stückes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten jedesmal höchstens um Bruchteile eines Millimeters verschiebt und abschneidet, so lange, bis man das Gewünschte entfernt hat.

Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit einem Messer von den Rändern des Paraffinblocks Paraffin abgeschnitten, so dafs die Schnittfläche des Objekts eine möglichst kleine ist. Es empfiehlt sich hierbei, wenn man mit schief gestelltem Messer schneidet, den Block so zuzuschneiden, dafs die Schnittfläche gegen das Messer eine Spitze bildet; es greift dann das Messer leichter an, doch ist dies unwesentlich. Dann wird der Schlitten mit der Mikrometerschraube an den Objektschlitten so angenähert, dafs die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt, und der Schlitten wird mit der Halteschraube befestigt. Das Schneiden kann beginnen.

168. Beim **Schneiden** führt die rechte Hand den Messerschlitten, indem sie denselben mit zwei Fingern an der dem Schneidenden zugekehrten und der entgegengesetzten Seite anfafst. Niemals darf von oben aufgedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt

unregelmäfsig werden. Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens zu verhindern, sich aufzurollen.

169. Es sind auch sogenannte Schnittstrecker (Born, 93) konstruiert worden; dieselben sind jedoch entbehrlich.

170. Zunächst wird die Mikrometerschraube gedreht, und zwar für den Anfang in der Regel zur Erzielung einer Schnittdicke von 15 μ, bei Jung eine Umdrehung, später 10 μ und weniger, d. h. es wird die Schraube nur zu zwei Drittel und weniger gedreht, was an der Trommel abgelesen werden kann.

Dann wird der Messerschlitten langsam durch die Bahn geführt, indem, sowie das Messer faſst, mit dem Pinsel der Schnitt gehalten wird, ehe er sich zu rollen beginnt.

Die Pinselführung macht im Anfang viel Schwierigkeit. Einmal sollen die Pinselhaare nicht mitgeschnitten werden, dann muſs der Schnitt während des Schneidens frei in der Luft gehalten werden, ohne mit dem Pinsel aufs Messer aufgedrückt zu werden. Doch ist die erforderliche Übung bald erreicht.

171. Ist so der Schnitt gelungen, so wird derselbe mit einem oder zwei Pinseln oder auch vermittelst einer Nadel oder eines spitz ausgezogenen Glasstäbchens weggenommen, um weiter behandelt zu werden. Dann wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn.

Der Messerschlitten muſs stets deshalb durch die ganze Bahn geführt werden, damit eine gleichmäſsige Abnutzung derselben erzielt wird.

172. Hat man eine Zeit lang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben, sie muſs dann zurückgedreht werden. Dabei ist zu beobachten, daſs die zurückgedrehte Mikrometerschraube den Messerschlitten nicht mehr berührt. Es muſs demnach die Halteschraube des Mikrometerschraubenschlittens gelöst, derselbe in der früher angegebenen Weise vorsichtig an den Objektschlitten angeschoben und dann wieder festgeschraubt werden. Der Objektschlitten darf während der ganzen Operation nicht bewegt werden. Ist dies aus Unvorsichtigkeit doch geschehen, so muſs das Objekt vorsichtig wieder in Schnitthöhe gebracht werden, wie es in § 166 angegeben wurde.

173. Oben ist angegeben, dass die Messerstellung eine *schiefe* sein soll; dies ist besonders nötig, wenn ein Objekt

schwer zu schneiden ist. Es hat dies den Zweck, dafs die Wirkung des Messers mehr auf Zug als auf Druck beruhe, was das Schneiden erleichtert (siehe § 66).

174. Bisweilen empfiehlt es sich auch, das Messer quer zur Längsachse der Bahnen zu stellen. Dadurch wird das sogenannte Bänderschneiden ermöglicht. Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt an der Schneide kleben, und beim Schneiden wird er Rand an Rand mit dem nun folgenden Schnitt innig verbunden. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten aneinander kleben lassen. Bänderschneiden ist nur möglich bei kleinen Objekten, nicht zu dicken Schnitten, bei einer bestimmten Paraffinsorte und bei geeigneter Temperatur Das Bänderschneiden gestattet ein rasches Arbeiten. Nötig ist es, die Oberfläche des das Objekt einschliefsenden Paraffinblocks (am besten quadratisch) so zuzuschneiden, dafs die der Messerschneide und die dem Schneidenden zugekehrte Seite beide der Messerschneide parallel sind.

175. Um bei hoher Zimmertemperatur das Schneiden von Paraffin auch von verhältnismäfsig niedrigem Schmelzpunkt zu ermöglichen, kann man sogenannte Kühlmesser benützen (Stofs, 91). Solche Messer (welche Katsch in München liefert) sind nahe dem Rücken der Länge nach durchbohrt, durch die so gebildete Röhre im Messer wird ein Eiswasserstrom durchgeleitet. Wenn das Paraffin infolge zu hoher Zimmertemperatur zu weich wird, kann man sich auch dadurch helfen, dafs man das eingespannte Paraffinstück mit einem mit Äther getränkten Stückchen Watte umwickelt.

Das bisher geschilderte Schneiden bezieht sich auf mit Paraffin durchtränkte Stücke, welche trocken geschnitten werden.

176. Mit Celloidin durchtränkte Schnitte werden feucht geschnitten, d. h. es mufs vor jedem Schnitt das Stück und das Messer mittels eines Pinsels mit 70 bis 80%igem Spiritus befeuchtet werden.

Nach dem Feuchtschneiden bedarf das Mikrotom einer besonderen Reinigung, um das Rosten zu verhüten.

4. Kapitel.

Weiterbehandlung des Schnittes.

177. Die Weiterbehandlung des Schnittes richtet sich nach dem Medium, mit welchem derselbe durchtränkt war. Paraffinschnitte müssen zunächst von dem darin befindlichen **Paraffin befreit** werden. An Schnitten von Objekten, welche auf keine Weise gefärbt sind, sieht man auch an den dünnsten nur wenig. Ungefärbte Schnitte müssen

daher gefärbt werden, Schnittfärbung, wenn nicht Stückfärbung vorausgegangen ist. Dann können dieselben zur Aufbewahrung **eingeschlossen werden.**

Es hat sich als praktisch herausgestellt, grofse, leicht zerfallende Schnitte, z. B. Drüsen, ebenso zarte Objekte oder Serien, welche geordnet bleiben sollen, vor diesen Manipulationen auf den Objektträger zu befestigen. — »Aufkleben.« Dies bietet u. a. den Vorteil, dafs man eine grofse Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmäfsiger behandeln kann. Unerläfslich ist das Aufkleben, wenn es sich um Anfertigung sogenannter Schnittserien, z. B. für embryologische Untersuchungen oder für die Rekonstruktionsmethoden (siehe diese), handelt. Man hat beim Serienschneiden darauf zu achten, dafs kein Schnitt verloren geht; ist dies doch geschehen, so ist dies sofort zu notieren (etwa so, dafs man in den Serienkatalog einschreibt: Serie 1, Objektträger 2, Schnitt 3 fehlt). Über die Bezeichnung der Objektträger siehe § 184. Die Weiterbehandlung von Paraffinschnitten, welche aufgeklebt werden sollen, ordnet sich folgendermafsen: Aufkleben, Paraffinbefreiung, Schnittfärbung, Einschlufs (siehe die nächsten Kapitel).

178. Hier soll nur die **Weiterbehandlung nichtaufgeklebter Paraffinschnitte und Celloidinschnitte** (für letztere sind Aufklebemethoden [s. § 193] noch nicht in der vollendeten Weise wie für erstere bekannt) geschildert werden. Die Weiterbehandlung nicht aufgeklebter Schnitte ist gut einzuüben, da dieselbe in der pathologisch-anatomischen Technik eine grofse Rolle spielt.

179. Paraffinschnitte werden vom Mikrotom mit Pinsel, resp. mit einer Nadel direkt in ein flaches Schälchen, enthaltend eine der oben angegebenen (s. § 121) Flüssigkeiten, gebracht, in denen sich Paraffin löst, z. B. Xylol. Im Xylol müssen die Schnitte mindestens so lange verweilen, bis sich Paraffin löst, was man mit bloſsem Auge sehen kann. Ist das Schneiden beendigt, so können die Schnitte zusammen weiter behandelt werden. Aus dem Xylol können die Schnitte direkt eingeschlossen werden, vorausgesetzt, dafs die Einschlufsmasse dies gestattet, also z. B. nicht wasserhaltig ist, sondern z. B. in Xylol gelöster Kanadabalsam. Man verfahre dann nach § 200. Beim Übertragen des Schnittes benutze man Spatel und Nadel und sorge, dafs der Schnitt sowohl auf dem Spatel wie *auf dem Objektträger* glatt liegt. Sollen die Schnitte vor

dem Einschlufs gefärbt werden, so übertrage man die Schnitte aus dem Xylol mit Spatel und Nadel in ein Schälchen mit absolutem Alkohol und beginne dann zunächst mit der Hämatoxylinfärbung, wie dieselbe in § 236 geschildert wird. Danach färbe man weitere Schnitte nach in Kapitel 8 angegebenen Methoden. Endlich schliefse man die gefärbten Schnitte nach Kapitel 7 ein.

180. Es können aber auch die Schnitte jetzt schon vor dem Einschlufs direkt untersucht werden, was unter Umständen vorteilhaft ist, namentlich wenn man dieselben aus dem Xylol in Flüssigkeiten von verschiedenen Lichtbrechungsvermögen überträgt und darin auf den Objektträger bringt und untersucht. Häufig bedient man sich hierzu des Nelkenöls (besitzt ein starkes Lichtbrechungsvermögen), in welches die Schnitte aus dem Xylol direkt übertragen werden können. Will man in Glycerin untersuchen (siehe auch § 203), kommen die Schnitte aus dem Xylol in absoluten Alkohol, von da in 90%igen, 70%igen Alkohol, in destilliertes Wasser, in zu zwei Drittel, dann zur Hälfte, mit Wasser verdünntes Glycerin je etwa eine Minute, endlich in reines Glycerin.

181. Die **Celloidinschnitte** dürfen nicht mit absolutem Alkohol in Berührung kommen, falls man Celloidin erhalten haben will. Sie werden also, nachdem sie geschnitten sind, zunächst in ein Schälchen mit 70—80%igem Alkohol gebracht. Die Schnitte können gefärbt (aufser in wenigen Farben, die in absolutem Alkohol gelöst sind), ausgewaschen u. s. w., mit 95%igem Spiritus behandelt (1—3 Minuten, je nach der Dicke des Schnittes) und in Origanumöl, Cedernholzöl z. B., nicht aber in Nelkenöl, welches Celloidin lösen würde, aufgehellt werden. Nach Entfernung des Öles (etwa mit Xylol) erfolgt Einschlufs in Kanadabalsam (s. § 200).

182. Als Aufhellungsmittel für Celloidin wurde zuerst von Hauptmann Urban die konzentrierte Karbolsäure vorgeschlagen. Dies wurde von Weigert mit Erfolg in der Weise modifiziert, dafs er auf ein Volumen Karbol drei Volumina Xylol nimmt, und um das Ganze wasserfrei zu erhalten, verfährt er wie beim absoluten Alkohol (siehe § 122).

5. Kapitel.

Aufkleben.

183. Es ist zweckmäfsig, schon der Raum- und Zeitersparnis halber, aber namentlich um die Schnitte während der Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, dieselben auf den Objektträger aufzukleben.

Auf das Deckgläschen aufzukleben, empfiehlt sich weniger, da dies die Aufklebeoperation wie die Nachbehandlung erschwert.

184. Man gewöhne sich von Anfang an, die Schnitte in Reih und Glied, wie Buchstaben und Zeilen im Buche, aufzulegen. — Um die Reihenfolge der Objektträger und eine bestimmte Folge der darauf aufgeklebten Schnitte sich zu merken (was z. B. für Serienschnitte unumgänglich notwendig ist), pflegt man dieselben mit auf einander folgenden Zeichen, Nummern oder Buchstaben zu markieren. Dazu bediene man sich am zweckmäfsigsten eines Schreibdiamanten. Bezeichnet wird stets an derselben Stelle des Objektträgers, z. B. in der Ecke rechts unten. — Empfehlenswert ist auch die käufliche Glastinte, mit welcher man am besten eine grofse Anzahl von Objektträgern vor Benutzung numeriert.

Die sonst üblichen Mittel zur Bezeichnung der Objektträger, wie Tinte, Ölstifte u. s. w., sind nicht zu empfehlen, da sie leicht und namentlich bei eventueller Weiterbehandlung verschwinden.

185. Je nach der Wahl der Masse, welche zum Aufkleben verwendet wird, richtet sich die nachfolgende Behandlung der aufgeklebten Schnitte. Ist die klebende Masse in Wasser, Alkohol, ätherischen Ölen u. s. f. unlöslich, so ist selbstverständlich auch die Färbung der bereits aufgeklebten Schnitte nicht ausgeschlossen.

Man kann aufkleben Paraffinschnitte mit Wasser (Spiritus), Eiweifs, weniger gebräuchlich Schellack, Kollodium, Celloidinschnitte nach dem Weigertschen Verfahren.

186. Aufkleben mit Wasser (Spiritus) ist die einfachste Methode, die aber einer gewissen Vorsicht bedarf und deshalb nicht in den Händen der Anfänger dasjenige leistet, was sie leisten soll; sie ist von Gaule und Altmann empfohlen.

Die Fixierung der Schnitte beruht in diesem Falle wahrscheinlich auf einer Kapillar-Attraktion. Sehr sorgfältig gereinigte Objektträger werden mit destilliertem Wasser oder sehr verdünntem Spiritus gleichmäfsig benetzt. Man breite nun die Paraffinschnitte auf der Wasser- resp. Spiritusschicht aus. Dann erwärme man (falls die Schnitte sich noch nicht ausgebreitet haben) den Objektträger leicht, wobei sich die Schnitte glatt legen (Paraffin darf nicht *schmelzen*), entferne mit Filtrierpapier die überschüssige

Flüssigkeit, ordne die Schnitte definitiv, etwa mit einem Pinsel und lasse die Schnitte, die gut vor Staub geschützt werden müssen, 24 Stunden lang eventuell im Thermostat bei 35° C. trocknen. Die so getrockneten Schnitte werden eventuell kurz auf eine höhere Temperatur über den Schmelzpunkt des Paraffins erwärmt und können nun bei einer gewissen Vorsicht allen möglichen Behandlungen unterzogen werden.

Man kann so fixierte Schnitte, sagt Altmann, sogar künstlich verdauen, ohne dafs die unveränderten Teile des Schnittes ihre Lage zum Objektträger im geringsten wechseln.

Mit Vorteil legt man die Objektträger mit den auf Wasser ausgebreiteten Schnitten auf einfache Wärmtische von Metall, deren Temperatur durch eine am anderen Ende untergestellte Spirituslampe beliebig reguliert werden kann. Die Schnitte legen sich, ehe das Paraffin zum Schmelzen kommt (was vermieden werden soll), ganz glatt. Zum Ordnen bediene man sich eines zugespitzten Holzstäbchens; dann verfährt man weiter, wie angegeben.

187. Handelt es sich nicht um Serien, so kann man Paraffinschnitte direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmem Wasser übertragen; hier legen sie sich glatt. Man fängt dieselben später direkt mit dem Objektträger aus dem Wasser auf und läfst sie auftrocknen.

188. P. Mayer (96) empfiehlt, die Schnitte statt mit Wasser oder schwachem Alkohol mit der Farblösung selber aufzukleben. Dabei wirkt der Farbstoff, wenn man die Schnitte, um sie sich dehnen zu lassen, in die Wärme bringt, meist ebenso rasch wie energisch, und so lassen sich Färbungen erzielen, die sonst nicht leicht zustande kommen. Man mufs nur dafür Sorge tragen, dafs die Schnitte auf der Farblösung schwimmen, dafs diese später gut mit Wasser abgespült wird, und dafs die Schnitte wirklich ganz trocken sind, bevor man sie in Xylol (zum Entfernen des Paraffins) und von da in Balsam überträgt.

189. Wegen der Raschheit des Verfahrens noch jetzt beliebt ist das von P. Mayer (83) eingeführte **Aufkleben mit Eiweifs.** Möglichst frische Hühnereier, etwa 3 Stück, werden aufgeschlagen, das Eiweifs in eine Schüssel abgelassen, wobei man sorgfältigst die Verletzung der Dotterhaut des Eigelbs zu vermeiden hat. Es wird einige Zeit mit einem Holzstabe geschlagen und durch Filtrierpapier filtriert. Da Eiweifs sich ziemlich rasch zersetzt, so ist das Hinzufügen eines Kampferstückchens zu der filtrierenden Flüssigkeit

sowohl, als zu dem Filtrat sofort anzuraten. Eiweifs filtriert sehr langsam, man erhält aber doch nach 12 Stunden ein paar Cubikcentimeter Eiweifs. Zu diesem füge man ebensoviel des chemisch reinen Glycerins, dann ebenfalls ein kleines Stückchen Kampfer oder Natriumsalicylat hinzu und bewahre das Ganze in einem gut vor Staub geschützten Gefäfs. Nachdem sich nun Glycerin mit Eiweifs gemischt hat, was man durch Schütteln beschleunigen kann, ist es zum Gebrauche fertig. Beschleunigen kann man das Filtrieren auch, wenn man Eiweifs und Glycerin vor dem Filtrieren mischt; es mufs dann noch einige Zeit mit dem Stab geschlagen werden, ehe es filtriert wird.

Es wird auf einem gut gereinigten Objektträger etwa mit einem feinen Pinsel eine möglichst dünne Schicht des Eiweifses aufgetragen und mit reiner Fingerbeere oder einem Glasstabe geglättet. Auf diese so präparierte Fläche werden die in Paraffin gefertigten Schnitte gelegt und eventuelle Falten, die aber nicht zahlreich sein dürfen, mit einem breiten Pinsel ausgeglichen und so aufgedrückt, dafs sich keine Luftblasen zwischen Schnitt und Eiweifs befinden. Dabei liegt der Objektträger auf dem Tisch.

Will man einen vorgeschriebenen Raum, etwa die Gröfse eines Deckglases, vollkommen ausnützen, so kann man denselben auf einem Stück Papier mit Bleistift oder ähnlichem vorzeichnen und den Objektträger in passender Lage darauflegen.

Ist nun eine gewünschte Menge Schnitte auf der so präparierten Eiweifsfläche sortiert und aufgedrückt, so erwärme man das Ganze bis auf die Koagulationstemperatur des Eiweifses, etwa 70° C.

Dies geschieht, indem man den Objektträger kurze Zeit über einer kleinen Spiritus- oder Gasflamme erhitzt, bis derselbe heifs geworden ist. Diese Methode gestattet ein rasches Arbeiten, ist jedoch mit Vorsicht anzuwenden, da das Präparat leicht durch zu starke Erhitzung beschädigt werden kann.

Zur Erzielung einer konstanten Temperatur, bei welcher Eiweifs koaguliert, kann man sich auch spezieller Vorrichtungen, z. B, eines Thermostats (siehe § 130), der für 70° C. reguliert wird, bedienen. Auch folgende Erfahrung ist von Wert. Läfst man Wasser in einem beliebigen Gefäfse, etwa einem Wasserbade, aufkochen und hält nun den Objektträger in den Dämpfen des kochenden Wassers (indem man die Objektträger etwa auf ein Drahtnetz eines Wasserbades legt) auf etwa ½ Minute, so *koaguliert das* Eiweifs bei der höheren Temperatur selbstver-

ständlich; es erleiden aber die Gewebe, aufser vielleicht Knorpel und Knochenlamellen, elastische Platten, die sich gerne werfen, gar keine Veränderung.

Bei einiger Übung kann das Präparat schon nach etwa 10 Sekunden aus dem Dampf genommen werden. Dazu ist notwendig, darauf zu achten, dafs der Dampf direkt auf die Unterseite des Objektträgers einwirkt. Die Erfahrung lehrt, dafs zur Koagulierung etwa 10 Sekunden Dampfeinwirkung genügen, wenn dieselbe eine so starke ist, dafs das Paraffin rasch (nach 2 bis 3 Sekunden) schmilzt.

Die Schnitte kleben nun so fest, dafs z. B. fliefsendes Wasser dieselben nicht wegschwemmt; es können damit alle folgenden Operationen, wie sie im weiteren angegeben werden, vorgenommen werden.

Bestimmten Reagentien dürfen jedoch mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht ausgesetzt werden, und zwar derartigen, welche Eiweifs lösen und dadurch die Schnitte ablösen würden. Solche sind starke Säuren und Alkalien.

Man könnte also beispielsweise mit Borax-Karmin 12 bis 24 Stunden färben, ebenso lange mit einem $^1/_2$% Salzsäure enthaltenden Spiritus ausziehen, mit Spiritus waschen, mit absolutem Alkohol entwässern und einschliefsen. Man würde aber beispielsweise den übrigens nur für sehr spezielle Zwecke brauchbaren Karmin von Schneider (Karmin bis zur Sättigung gelöst in einer 45%igen Essigsäure) selbstredend aus angedeuteten Gründen (wegen der dabei mitwirkenden Essigsäure) zu vermeiden haben.

Ferner sind es bestimmte Farben, welche Eiweifs ablösen, z. B. Pikrokarmin; andere nur in stärkeren Lösungen, z. B. Benzoazurin.

Bei Besprechung der Weiterbehandlung, vor allem der Färbung, wird es stets angegeben werden, wenn dieselbe ein Aufkleben mit Eiweifs nicht gestattet.

Sind die Schnitte sehr dünn, unter 8 μ, und nicht zu grofs, nicht über 1 qmm, sind sie auch gut auf der Eiweifsschicht mit dem Pinsel geglättet, so kann man den Objektträger mit den Schnitten vorsichtig in ein Gefäfs mit absolutem Alkohol auf etwa $^1/_2$—1 Stunde legen, wobei die Koagulation des Eiweifses, und damit die Befestigung der Schnitte ebenso vollständig wie durch die Wärme erfolgt.

190. Japanische Methode. Reinke (95) beschickt Objektträger, Deckgläser oder Glimmerplatten mit aufserordentlich wenig Eiweifsglycerin und verstreicht dasselbe mit der Fingerbeere, bis scheinbar kaum eine Spur mehr vom Eiweifs vorhanden ist. Dann Erwärmen der Platten im Thermostat bei 70° (besser als über der Flamme), um das Eiweifs zu koagulieren. Diese Platten werden mit

reichlichem Wasser beschickt, dann vorsichtiges Erwärmen, bis sich die Schnitte faltenlos ausgebreitet haben (Paraffin darf nicht schmelzen). Dann Trocknen im Thermostat bei 30—35° C., einige Stunden genügen in der Regel.

191. Eine weitere Masse, womit auf dem Objektträger schon vorher gefärbte Paraffinschnitte fixiert werden können, ist die Schällibaumsche (83): Kollodium 1 Teil mit 3—4 Teilen Nelkenöl gemischt. Mit dieser Mixtur wird der Objektträger dünn angestrichen, die Schnitte darauf geordnet, in einem auf 50—60° C. gewärmten Raum einige Stunden liegen gelassen, bis das Öl sich zu Tropfen sammelt. Diese Prozedur kann dadurch verkürzt werden, dafs man den Objektträger samt den Schnitten ein paarmal über einer Flamme hin- und herzieht (Lee).

Nach dem Erkalten ist die Anwendung von paraffinlösenden Mitteln, wie Xylol u. s. w., zulässig, und nun schreite man zum Einschliefsen in Canadabalsam.

Die Aufklebemethode mit Kollodium-Ricinusöl siehe § 283.

192. Die Schellackmethode von Giesebrecht (81), welche die erste publizierte Aufklebemethode ist, wird heute kaum mehr angewandt.

193. Schnitte, mit Celloidin eingebetteten Objekten entnommen, welche, wie im § 176 angegeben wurde, feucht geschnitten werden, können in der bisher angegebenen Weise nicht aufgeklebt werden.

Eine von Weigert (85) speziell für das Centralnervensystem ausgearbeitete Methode läfst jedoch auch hier die **Behandlung vieler Schnitte auf einmal** zu.

Die Schnitte werden mit ungeleimtem Papier (sogenanntem Klosettpapier) in einer bestimmten Reihenfolge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt; sie bleiben daran haften, und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt den Schnitten nicht trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%igem Alkohol befeuchtete Lage von Fliefspapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend grofsen Glasplatte dünnflüssiges Kollodium (welches man eventuell mit Schwefeläther verdünnen kann) nach Art, wie es die Photo*graphen thun*, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht

trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%igem Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise wie die erste auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fliefspapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken geworden, so mufs man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht von der Glasplatte abgehen und mit einander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschliefsen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden.

194. Nach einer in letzter Zeit oft angewandten Methode von Obregia (90) werden Celloidinschnitte zunächst auf Streifen von Klosettpapier, welche auf mit 70%igem Alkohol angefeuchtetem Filtrierpapier (in einem Teller) liegen und dann auf Zuckerplatten übergeführt, welche in folgender Weise bereitet werden. Gut gereinigte Glasplatten werden mit einer syrupdicken Lösung von gewöhnlichem Zucker (in Wasser oder ca. 30%igem Alkohol) übergossen oder besser mit einem Pinsel bestrichen. Dann werden die Platten in einem Thermostat bei ca. 30° getrocknet — ist der Zucker in Alkohol gelöst, so kann derselbe einfach angezündet werden. Die Oberfläche des Zuckers mufs glatt erscheinen, und die Zuckerschichte darf keine Blasen haben. — Die Schnitte werden mit dem Papier auf die Zuckerplatten gelegt und leicht angedrückt, dann wird das Papier langsam abgehoben, so dafs die Schnitte am Zucker kleben bleiben. Ist der an den Schnitten haftende Alkohol zum gröfsten Teil verdunstet, so werden dieselben mit einer mitteldicken Celloidinlösung in dünner Schicht übergossen. Ist diese getrocknet, so werden die Platten in Wasser gelegt; der Zucker löst sich und damit von der Platte auch die durch die aufgegossene Celloidinschicht als Serie vereinigten Schnitte, welche in gewöhnlicher Weise gefärbt und weiterbehandelt werden können.

Vermittelst dieser Methode kann man auch Paraffinschnitte, wenn es nötig ist (z. B. zur Weigertschen Färbung), in Celloidinschnitte umwandeln.

195. Die in Celloidin eingebettet gewesenen Schnitte können auf einem gereinigten Objektträger flach ausgebreitet, in Reihen geordnet und mit einem 96%igen Spiritus angefeuchtet werden. Ist das geschehen, so werden sie samt dem Objektträger Ätherdämpfen ausgesetzt; die Schnitte kleben nun fest und können mit Flüssigkeiten behandelt werden, welche Celloidin nicht lösen.

6. Kapitel.

Paraffinbefreiung.

196. Die Befreiung des Schnitts von Paraffin geschieht durch Lösung desselben in einer der oben (§ 121) angegebenen Flüssigkeiten; billig und wohlgeeignet hierfür ist **Xylol.**

Der Objektträger mit den (nach Kapitel 5) aufgeklebten Schnitten wird auf 3—5 Minuten in ein Glas (siehe § 238) mit Xylol gesteckt. Gleichzeitige Weiterbehandlung mehrerer Objektträger ist in Porzellanschalen mit Rillen möglich.

Mit Eiweifs-Glycerin aufgeklebte Schnitte müssen stets vor der Weiterbehandlung und dem Einschliefsen aus dem Xylol noch in absoluten Alkohol übertragen werden. Man hat vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, wenn man aus dem Xylol direkt in Xylol-Canadabalsam einschliefst, da ja das Aufklebe-Eiweifs mit Glycerin gemischt ist. Dieses, wenn es auch sehr wenig ist, mischt sich nicht mit Xylol und erzeugt Flecken.

7. Kapitel.

Einschliefsen.

197. Nachdem die Schnitte in der bisher angegebenen Weise behandelt worden sind, können sie untersucht werden. Hierbei empfiehlt es sich, namentlich gefärbte Schnitte in stärker lichtbrechenden Medien zu betrachten, z. B. Xylol, Nelkenöl, Glycerin (s. § 180).

198. Es ist wünschenswert, Schnitte für spätere Untersuchungen aufbewahren zu können. Die Schnitte werden zu diesem Zweck in eine **Einschlufsmasse** eingeschlossen, welche durchsichtig sein mufs und die Schnitte wie die Farben, womit dieselben gefärbt sind, möglichst wenig verändern soll. Die bisher genannten Medien eignen sich *hierzu wenig.* Xylol verdunstet rasch, Nelkenöl ändert

manche Farben. Glycerin hat sich für viele Fälle zweckdienlich erwiesen.

Bei flüssig bleibenden Einschlufsmassen mufs der Rand des Deckgläschens mit dem Objektträger durch eine Kittmasse verbunden werden: Umranden, um das Abfliefsen desselben zu verhindern.

199. Die besten Einschlufsmassen sind Harze, welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden, dann trocknen, fest werden und damit zugleich das Deckgläschen festhalten. Man mufs jedoch im Auge behalten, dafs die Harzmassen ein hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen und daher ungefärbte Gewebe sehr wenig deutlich erkennen lassen.

200. Einschlufs in Canadabalsam. Anfertigung des Canadabalsams. Der im Handel käufliche Canadabalsam ist meist in Terpentinöl gelöst. Er mufs in einer Schale bei nicht zu hoher Temperatur (etwa 60° C.) zum Trocknen eingedampft werden und wird dann wieder in Xylol gelöst. Anstatt Xylol können auch andere Lösungsmittel, z. B. Chloroform, verwendet werden (s. § 121).

Der so zubereitete Canadabalsam wird in Flaschen aufbewahrt, deren Stopfen einen bis nahe dem Boden der Flasche reichenden Glasstab trägt, um ein tropfenweises Entnehmen des Canadabalsams zu gestatten.

Einschliefsen in Canadabalsam. Der Schnitt, welcher in Xylol oder einer der in § 121 angeführten Flüssigkeiten gewesen sein mufs, wird auf den Objektträger gebracht, ein Tropfen Canadabalsam kommt darauf, und ein Deckglas wird unter Vermeidung grofser Luftblasen aufgelegt. Kleine Luftbläschen schaden nicht, sie verschwinden später von selbst.

Aufgeklebte Schnitte, die nach § 196 behandelt sind, kommen, um den darin befindlichen Alkohol zu entfernen, noch einmal in Xylol, dann läfst man abtropfen (nicht trocknen!), bringt einen Tropfen Canadabalsam auf den Schnitt und deckt rasch mit einem Deckgläschen zu. Man mufs sich hüten, den Objektträger anzuhauchen, da das hierbei sich niederschlagende Wasser mit Xylol eine störende Trübung ergibt.

Die Präparate sind in den nächsten Tagen und Wochen bisweilen nachzusehen und, wenn durch Verdunstung des Xylols der Raum unter dem Deckglas nicht mehr gefüllt ist, nachzugiefsen. Dies geschieht, indem man einen Tropfen Canadabalsam an den Rand des Deckglases auf den Objektträger setzt. Man kann durch vorsichtiges Erwärmen des Präparats über der Flamme und vorsichtiges Drücken auf

das Deckglas nachhelfen. (Man kann auch die Blasen mit Xylol füllen und dann am Rande Canadabalsam zusetzen, welcher an Stelle des verdunstenden Xylols eingesaugt wird.)

201. Sollen Präparate rasch trocknen — und dies kann nötig werden, wenn sie mit Ölimmersionen betrachtet werden sollen und ein Abwischen des Öltropfens ohne Zerstörung des Präparats wünschenswert ist — so können solche Präparate auf etwa 24 Stunden in einen Thermostat bei 45° C. ohne Schaden gebracht werden.

Von selbst trocknen die Präparate desto rascher, je dicker der angewandte Canadabalsam war, d. h. je weniger er Xylol oder dgl. enthielt; meist genügen etwa 14 Tage, um die Präparate wenigstens transportfähig zu machen.

202. Statt Canadabalsam kann man in derselben Weise Dammarharz (Pfitzner, 82) anwenden. Das letztere, namentlich in Benzin und Terpentinöl zu gleichen Teilen gelöst, hat den Vorzug, nicht so stark wie Canadabalsam aufzuhellen.

203. Einlegen in Glycerin. Wird jetzt hauptsächlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. Es bietet ferner den Vorteil, dafs es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe leichter erkennen läfst.

Auf die Schnitte, welche aus Alkohol oder besser aus Wasser oder Glycerin selbst kommen müssen, wird ein Tropfen Glycerin gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Dann wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, umrandet (siehe § 205).

204. Nahezu konzentrierte wässerige Lösungen von essigsaurem Kalium werden wie Glycerin angewendet (für Osmiumsäurepräparate und Fett). M. Schultze (71).

205. Die **Umrandung** geschieht, indem man einen dicken Draht über der Flamme erhitzt, mit demselben von der Umrandungsmasse einen Tropfen abschmilzt und diesen zunächst an eine Ecke des Deckgläschens bringt, so dafs er Objektträger und Deckgläschen verbindet, dann an die anderen Ecken, und nun die Seiten zuschmilzt, indem man mit dem heifsen Stabe den Tropfen an den Seiten entlang führt. Der Verschluſs soll ein vollständiger sein, dabei aber mufs beachtet werden, dafs der Rand nicht zu weit auf die Fläche des Deckglases übergreift.

Vorbedingung für das Umranden ist, dafs der Tropfen Einschlufsflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases hervorquillt. Ist dies doch geschehen, so mufs er vor der *Umrandung* sorgfältig abgewischt werden.

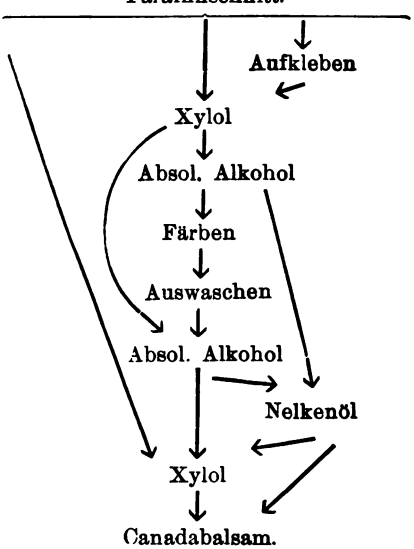
Als **Umrandungsmassen** können dienen:

206. Paraffin. Dasselbe ist für den dauernden Einschlufs wenig zu empfehlen.

207. Der **Krönig**sche **Lack** (86) ist eine sehr gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht, da die Masse Feuer fangen kann!) Man kann die Masse durch Gaze heifs filtrieren. Vor Anwendung einer Ölimmersion empfiehlt es sich, den Rand mit alkoholischer Schellacklösung zu überstreichen.

208. Der Dr. **Kaiser**sche **Maskenlack**, der sich namentlich für das Umranden mit dem Drehtisch empfiehlt, ist käuflich.

209. Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts.



8. Kapitel.

Die Färbung.

210. Betrachtet man einen dünnen Schnitt, welcher in der bisher angegebenen Weise angefertigt und eingeschlossen ist, so sieht man noch sehr wenig, da das Lichtbrechungsvermögen allein die verschiedenen Gewebe nur wenig unterscheiden läfst.

Deutlicher sieht man gefärbte Objekte, z. B. natürliche Färbungen, Pigmente, Pigmentzellen. Viele Fixierungsmethoden färben bestimmte Gewebe in einer Weise, welche dieselben deutlicher erkennen läfst, z. B. Osmiumsäure, Chromsäure, Pikrinsäure.

211. Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser Farbstoffe, um die Gewebe zu färben.

Da von verschiedenen Fabriken unter demselben Namen oft nicht dieselben Farbstoffe geliefert werden, so ist zu beachten, dafs sich die folgenden Angaben auf Farbstoffe beziehen, welche von Dr. G. Grübler in Leipzig, Bayerische Str. 63, bezogen wurden.

212. Man hat schon früh bemerkt, dafs es bestimmte Gewebsteile sind, welche eine Reihe von Farbstoffen mit gröfserer Intensität aufnehmen und festhalten, als andere, solche sind z. B. die Kerne. Kernfärbung.

Um eine gute **Kernfärbung** zu erhalten, ist das Verfahren stets folgendes. Man bringt den Schnitt in die betreffende Farbstofflösung. Nachdem dieselbe eine bestimmte Zeit eingewirkt hat, überträgt man den Schnitt in eine Flüssigkeit, in welcher der überschüssige Farbstoff in Lösung geht, z. B. Wasser oder Alkohol, man wäscht den Schnitt aus. Die Kerne sind es dann, welche allein den Farbstoff festhalten, und zwar meist nur ein Teil des Kerns, das Chromatin.

213. Aufser der reinen Kernfärbung färben viele Farbstoffe, welche zugleich gute Kernfärbemittel sind, mehr oder weniger stark andere Zellteile.

214. Die Farbstoffe, welche sich am besten bewähren und daher fast allein angewandt werden, sind:

Karmin, gewonnen von der Cochenilleschildlaus,
Hämatoxylin, gewonnen aus dem Campecheholz (Blauholz),
die Anilinfarben (Teerfarbstoffe),
seltener indigschwefelsaures Natrium.

215. Die Anilinfarben dienen nicht alle zur Kernfärbung, wohl aber einige derselben, z. B. Safranin, Methylgrün, Bismarckbraun, Fuchsin.

216. Gefärbt werden entweder ganze Stücke vor dem Schneiden, **Stückfärbung** oder Schnitte, **Schnittfärbung**.

Die erstere gestattet rascheres Arbeiten, die letztere bietet z. B. folgende Vorteile. Es kann die Färbung unter dem Mikroskop stets kontrolliert werden; man kann sich

vieler Farben bedienen, welche zur Stückfärbung nicht angewendet werden können, vor allem gehören hierher die Mehrzahl der Mehrfachfärbungen. Man kann unter Umständen auch beide Färbungen verbinden und dasselbe Objekt zuerst im Stück und dann im Schnitt färben.

217. Es empfiehlt sich, bei Einübung der Färbetechnik mit Hämatoxylin zu beginnen (etwa mit Hämalaun, siehe § 233 und § 236), und zwar zunächst mit dem Färben nicht aufgeklebter Schnitte, erst in zweiter Linie mit dem historisch ältest angewandten Farbstoff, dem Karmin, zu färben, hierbei auch die Stückfärbung einzuüben und dann sich mit den verschiedenen Anilinfarben zu befassen. In diesem Sinne ist auch die folgende Besprechung der Färbung gehalten, indem auf die grundlegenden Einzelheiten der Färbetechnik nur bei der Hämatoxylinfärbung eingegangen wird. Wer diese gründlich eingeübt hat, wird sich dann mit den weiteren Färbungen leicht zurechtfinden.

Karminfärbung.

218. Im Jahre 58 hat Gerlach eine vorher in Spiritus aufbewahrte kindliche Leiche mit ammoniakalischem Karmin injiziert und dabei gefunden, dafs in der Umgebung der Gefäfse die Kerne und Zellen durch die diffundierte Farbe gefärbt waren. Etwas später hat er die Wahrnehmung gemacht, dafs an vorher mit Alkohol u. s. w. fixierten Schnitten, die in einer schwachen ammoniakalischen Karminlösung längere Zeit weilen, u. a. sich Kerne färben.

219. Schon früher haben Hartig und Beale in England eine ähnliche Beobachtung gemacht.

220. Gerlach hat auch hervorgehoben, dafs lebendes Gewebe sich nicht in dieser Weise dem Farbstoffe gegenüber verhält, und dafs erst in der Färbeflüssigkeit abgetötete, resp. vorher fixierte Elemente die Fähigkeit, in oben angedeuteter Weise sich zu färben, erlangen.

221. Herstellung des ammoniakalischen Karmins.

1 g Karmin wird in 100 ccm destilliertem Wasser suspendiert; es wird nun unter beständigem Umrühren Ätzammoniak hinzugetröpfelt, bis das Ganze durchsichtig, lackfarben wird. In diese Flüssigkeit, die vor der Benützung filtriert und mit destilliertem Wasser verdünnt werden kann, kommen die Schnitte aus dem Wasser auf 1 Tag (bis auf 2 oder mehrere Tage), werden mit destilliertem Wasser abgespült und nach den gewöhnlichen Regeln in Glycerin resp. Canadabalsam übergeführt. Zeigen die Schnitte aufser der Kernfärbung das

übrige dunkel gefärbt, d. h. sind die Schnitte überfärbt, so kann man sich auf eine im § 224 erwähnte Weise helfen.

Diese Karminlösung kann man für mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte nicht verwerten.

Da ammoniakalische Flüssigkeiten die Gewebsteile und namentlich die Kerne stark angreifen, so hat man sich nach anderen Karminlösungen umgesehen.

222. Schneiders (80) Karmin. 45%ige Essigsäure wird zum Kochen gebracht, mit Karmin übersättigt und nach dem Erkalten filtriert.

223. Herstellung des sauren Karmins:

Eine ammoniakalische Lösung wird mit Essigsäure neutralisiert resp. etwas übersäuert, denn die schwache Essigsäure affiziert die Gewebsteile keineswegs in der Weise, wie Ammoniak. Man kann die Neutralisation entweder durch Titrieren bewerkstelligen oder in folgender bequemen und ziemlich genauen Weise: Zu einer ammoniakalischen Lösung (siehe § 221) wird tropfenweise eine starke Essigsäure (1 Eisessig, 2 Wasser) langsam zugesetzt, bis die kirschrote Farbe in eine ziegelrote undurchsichtige übergeht, was von einem einzigen Tropfen abzuhängen pflegt. Man hat dadurch einen schwachsauren, fast neutralen Karmin gewonnen (Schweigger-Seydel [68], Fr. Meyer). Die filtrierte schwachrote Flüssigkeit kann nun für Schnittfärbung, die langsam (24 Stunden) erfolgt, mit ausgezeichnetem Erfolge benützt werden.

224. Ist eine Überfärbung eingetreten, d. h. ist aufser den Kernen noch das übrige diffus gefärbt, so kann man sich in der Weise helfen, dafs man die so überfärbten Schnitte mit einer $^1/_2$—1%igen Salzsäure, gelöst in 70%igem Spiritus (auch Wasser-Glycerin zu gleichen Teilen) längere Zeit, bis 24 Stunden, behandelt. Der Farbstoff ist dann nur an die Chromatinsubstanz der Kerne ausschliefslich gebunden.

225. Grenacherscher Karmin.

Löst man durch Kochen 1—2 g Borax in 100 g Wasser und fügt dann $^1/_2$—$^3/_4$ g Karmin zu, so löst sich dieser in kurzer Zeit mit einer dunkel-purpurnen Farbe. Nun setzt man verdünnte Essigsäure tropfenweise (nach dem Erkalten) hinzu, bis die Farbe sich geändert und die einer gewöhnlichen ammoniakalischen Lösung angenommen hat. Man läfst das Ganze 24 Stunden stehen, um alsdann zu filtrieren.

Die Flüssigkeit färbt in kurzer Zeit diffus, die Schnitte müssen daher in Salzsäure 1 auf 1000 70%igen Spiritus so lange ausgezogen werden, als farbige Wolken den Schnitt verlassen; alsdann werden die Schnitte mit Spiritus abgewaschen und weiter wie gewöhnlich behandelt. Alk. abs., Xylol, Canadabalsam

Die Karmine, die jetzt mit Vorliebe benützt werden, sind die beiden von **Grenacher** (79) angegebenen, Alaun- *und Borax*-Karmin.

226. Alaunkarmin. Anfertigung. 100 ccm einer 1- bis 5%igen Lösung des gewöhnlichen oder Ammoniak-Alauns werden mit ½—1 g Karmin vermengt und ¼ Stunde anhaltend gekocht und dann nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in diese Lösung und sind nach ½ Stunde gefärbt. Ausgewaschen mit Wasser und weiter mit Alkohol etc. behandelt, zeigen sie eine fast ausschliefsliche Kernfärbung. Von sonstigen Gewebsteilen nehmen nur Muskeln etwas Farbe an. Sehr wichtig ist es, dafs Alaun-Karmin, auf längere Zeit angewandt, nicht diffus färbt, und dafs man ihn infolgedessen mit dem besten Erfolge zur Stückfärbung, z. B. für Embryonen und für Gewebsteile, gebrauchen kann. Die Lösung schimmelt leicht, es mufs derselben etwas Karbolsäure zugesetzt werden.

Zur Färbung namentlich gröfserer Stücke besitzen wir folgende zwei Borax-Karminlösungen.

227. Die **wässerige Borax-Karminlösung** wird folgendermafsen bereitet. 8 g Borax werden mit 2 g Karmin in einem Mörser verrieben, und 130 ccm destilliertes Wasser hinzugesetzt. Nach 24 Stunden wird dekantiert und filtriert. Stücke, namentlich mit Sublimat fixierte, ½—1 cm im Durchmesser, verbleiben in dieser Lösung 24 Stunden, in welcher sie wenig oder gar nicht angegriffen werden. Nun werden sie in eine ½- bis 1%ige Salzsäure in 70%igem Spiritus übertragen und bleiben darin ebenso lange; sie werden dann mit reinem 70%igem Spiritus 1 Tag behandelt, in 95%igen übertragen, durchtränkt und geschnitten. Sie zeigen eine exakte Chromatinfärbung, die mit Safranin wetteifern kann. Eine nachträgliche Färbung zur Doppelfärbung ist selbstverständlich zulässig.

Die Lösung ist ein Constituens des von Norris und Shakespeare angegebenen doppelfärbenden Mixtums (siehe § 258).

228. Will man die zu färbenden Stücke nicht in Kontakt mit Wasser bringen, so bediene man sich der spirituosen resp. alkoholischen Karminlösung. Sehr oft gebräuchlich ist die sogenannte **alkoholische Borax-Karminlösung:**

2—3 g Karmin
4 g Borax
93 ccm Wasser

wird zur Lösung gebracht, 100 ccm 70%igen Alkohols zugesetzt, geschüttelt und filtriert. Färbung wie in § 227.

229. Für Stück- und Schnittfärbung hat P. Mayer (81) folgende Karminlösung empfohlen:

4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser suspendiert, es werden dann 30 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen hinzugefügt. Nun kommen 95 ccm Spiritus von 85% hinzu, das Ganze wird aufgekocht und mit Ammoniak neutralisiert, nach dem Erkalten filtriert. Färbung wie § 227.

Wegen der Entzündlichkeit der Alkoholdämpfe ist das Kochen von Spiritus mit Vorsicht auszuüben.

230. Der Bealesche (57) Karmin besteht aus:

Karmin	0,6
Ätzammoniak	3,75
Glycerin	60
dest. Wasser	60
Alkohol	15.

Karmin wird in Ammoniak unter Schütteln und Erwärmen gelöst; nach dem Abkühlen obige Mengen von Wasser, Glycerin und Alkohol zugesetzt. Diese Karminlösung wird hie und da, namentlich für Stückfärbung angewandt.

231. Parakarmin nach Paul Mayer (92).

Karminsäure 1 g
Chloraluminium ½ g
Chlorcalcium 4 g
Spiritus 70% 100 ccm.

Es ist hiermit eine Farbe gegeben, die sehr einfach herzustellen ist, und die, was von grofsem Wert, in 70%igem Spiritus gelöst ist; Schnitte und Stücke brauchen nach der Fixierung nicht mit Wasser in Berührung zu kommen. Aber auch die Anwendung der Farbe ist eine möglichst einfache; Parakarmin färbt rasch, und bei kleineren Stücken ist die Überfärbung nicht zu befürchten, das Auswaschen geschieht ebenfalls in 70%igem Spiritus; auch ein Paar centimetergrofse Stücke lassen sich in 24 Stunden durchfärben.

Ist die Überfärbung eingetreten, so wäscht man in ½%igem Chloraluminium in 70%igem Spiritus, event. 2,5%igem Eisessig in 70%igem Spiritus aus. Parakarmin ist hauptsächlich Kerne färbend.

232. Eine wässerige Cochenille (nach Czocor, 80) wird vielfach gebraucht: 7 g Cochenille (pulverisiert), 7 g Alaun und 100 ccm Wasser werden gemengt und auf die Hälfte eingekocht. Erkalten, filtrieren, Zusatz von Karbolsäure. Für Schnitt- auch Stückfärbung geeignet. Waschen in dest. Wasser.

Hämatoxylinfärbung.

Hämatoxylin (eingeführt in die mikroskopische Technik von Waldeyer) hat eine sehr mannigfache Anwendung gefunden, zur Färbung von Kernen und als Färbemittel für andere bestimmte Zwecke.

Es kann zur Schnittfärbung und zur Stückfärbung verwandt werden. (Stückfärbung: §§ 233, 241, 243, 244.)

Voraus stellen wir Hämalaun, da hier für die Anfertigung der Farbe präzise Daten gegeben werden können.

233. Paul Mayer (91 und 92) empfiehlt eine Hämatein-Alaunlösung, **Hämalaun.** 1 g Hämatein wird in 50 ccm Alkohol von 90% unter Erwärmen gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1 l Wasser gegossen unter Thymolzusatz. Nach dem Erkalten wird event. filtriert. Hämatein oder H. Ammoniak ist unter dem Namen Hämateinum crystallisatum im Handel bekannt. Es wird in der Weise bereitet, dafs man eine wässerige Hämatoxylinlösung (1 : 20) die mit Ätzammoniak versetzt worden ist, bei gewöhnlicher Temperatur vor Staub geschützt abdunsten läfst. Die Vorzüge des Hämalauns sind grofse, die Farbe kann sofort nach dem Bereiten benutzt werden (das Reifen fällt weg), färbt rasch, überfärbt (namentlich mit Wasser verdünnt) nicht, dringt tief ein, ist also auch mit Vorteil für Stückfärbung anzuwenden. Nach der Färbung wird mit destillirtem Wasser gewaschen.

234. Böhmersches Alaunhämatoxylin. Die Zubereitung ist nach Böhmer (65) und Frey (68) folgende: 0,35 Teile Hämatoxylin werden in 10 Teilen absoluten Alkohols gelöst. Eine zweite Lösung besteht aus

0,1 Alaun und
30 destillierten Wassers.

Man bringt einige Tropfen der ersteren Lösung in letztere, bis sich ein schönes Violett entwickelt.

Ebenso kommt man zum Ziel auf folgende Weise. Man fertige sich an: eine 1 bis 2%ige Alaunlösung in Wasser und eine gesättigte Hämatoxylinlösung in absolutem Alkohol, lasse letztere tropfenweise in erstere einfliefsen, bis eine violette Lösung entsteht. (Die zuzusetzenden Mengen sind je nach dem Hämatoxylinpräparat verschieden.) Diese Lösung wird beim Stehen dunkelblau und mufs vor dem Gebrauch filtriert werden. Sie mufs ausreifen, d. h. sie kann erst nach etwa 14tägigem Stehen (in offenem, vor Staub geschütztem Gefäfs) verwandt werden.

235. Das Böhmersche Hämatoxylin wird zur Schnittefärbung benützt. Es eignen sich hiefür am besten mit Salpetersäure, Pikrinsäure, Alkohol oder Sublimat fixierten Stücken entnommene Schnitte, weniger gut solche von Chromsäurepräparaten und solche, welche mit Osmiumsäure oder einem Osmiumsäure enthaltenden Gemisch behandelt

wurden. Solche Schnitte können aufgeklebt oder nicht aufgeklebt gefärbt werden.

236. Färbung mit Paul Mayerschem Hämalaun und Böhmerschem Alaunhämatoxylin:

Nicht aufgeklebte Schnitte werden mit Spatel und Nadel in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 5 ccm Hämalaun resp. Hämatoxylin enthält. Die Schnitte müssen hiebei wie bei den folgenden Manipulationen stets glatt auf dem Spatel liegen.

Es empfiehlt sich, die Schnitte (welche nach § 179 von Paraffin befreit sind) aus Alkohol nicht direkt in Hämatoxylin überzuführen, sondern vorher in Wasser oder besser in eine 1—2%ige Alaunlösung und sie darin einige Minuten zu belassen, da der im Schnitt enthaltene Alkohol mit der Farbe einen Niederschlag gibt, welcher unter Umständen störend wirkt. Aufgeklebte Schnitte können ohne fühlbaren Schaden von absolutem Alkohol in Wasser übertragen werden; bei zarten, nicht aufgeklebten Schnitten empfiehlt sich hier stets, eine oder mehrere Mischungen einzuschalten, z. B. 50% und 70% oder 40, 60, 80% u. dgl., um die die Gewebe lädierenden starken Mischungsströme zu vermeiden.

Die Schnitte bleiben 2 Minuten in der Farbe, und werden dann in eine grofse Schale mit Wasser übertragen, wo sie wenigstens 10 Minuten ausgewaschen werden. Beläfst man sie längere Zeit, etwa 1 bis 2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere.

Dann müssen die Schnitte wasserfrei gemacht werden, sie werden zu diesem Zweck mit Spatel und Nadel je etwa 3 Minuten erst in ein Schälchen mit 70%igem, dann 96%igem und endlich absolutem Alkohol übertragen, von da in ein ebensolches mit Xylol.

Namentlich das Übertragen in absoluten Alkohol mufs mit grofser Vorsicht geschehen, damit die Schnitte sich nicht rollen oder falten. Solche Falten bleiben, da die Schnitte in absolutem Alkohol so hart werden, dafs ein nachheriges Glattlegen mit Instrumenten meist eine Beschädigung des Schnittes herbeiführt. Leicht zu korrigieren ist eine solche Faltung dadurch, dafs man den Schnitt zurück ins Wasser bringt, wo die Faltung durch Bewegung des resistent gedachten Schnitts aufgehoben wird.

Aus dem Xylol werden die Schnitte auf den Objektträger gebracht; es kommt ein Tropfen Canadabalsam und das Deckgläschen darauf (siehe § 200).

Nelkenöl ist für Hämatoxylin zu vermeiden oder wieder gut mit Xylol auszuwaschen, weil Erfahrungen vorliegen, dafs dasselbe nachteilig auf das Halten der Farben einwirkt.

Die Zeitdauer des Verbleibens der Schnitte in den verschiedenen Flüssigkeiten haben wir so angegeben, dafs auch der Anfänger für die Mehrzahl der Objekte bei etwa 15 μ Schnittdicke gute Resultate (d. h. hellblaue und nicht zu dunkle Färbung) erhalten dürfte.

237. Mit Böhmerschem Hämatoxylin (gut ausgereifte Lösung) kann man entweder in derselben Weise verfahren oder etwa 3—5 Minuten färben. Die Zeit mufs dann ausprobiert werden, d. h. man mufs bisweilen einen Schnitt herausfangen und in Wasser bringen, um zu sehen, ob er die richtige Farbe hat. Der Schnitt soll hellblau, nicht aber zu dunkel werden. Darnach ist etwa 10 Minuten auszuwaschen und in der angegebenen Weise weiter zu behandeln. Es besteht bei diesem Verfahren die Möglichkeit, dafs die Schnitte überfärbt werden; man verfahre dann nach § 239.

In derselben Weise wie Schnitte können auch auf Deckgläschen befindliche Präparate (siehe § 331) behandelt werden. Doch werden die Deckgläschen nicht mit dem Spatel, sondern besser mit einer feinen Pincette aus einer Flüssigkeit in die andere übertragen.

238. Viel einfacher ist die Operation mit aufgeklebten Schnitten. Als Gefäfse, in welche die aufgezählten Flüssigkeiten gebracht werden, dienen hier Gläser, welche durchweg für die Färbetechnik auf dem Objektträger angewandt werden. Dieselben sind cylinderförmig, ohne Hals, mit einem Glasstopfen verschliefsbar. Sie sind so hoch, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch um etwa 5 mm über den oberen Rand hervorsieht. Dieselben dürfen nicht so weit sein, dafs ein hineingestellter englischer Objektträger noch zu Boden fallen kann.

Der Objektträger, auf welchem die Paraffinschnitte nach § 189 mit Eiweifs aufgeklebt sind, kommt zunächst in ein Glas mit Xylol, von da in ein Glas mit absolutem Alkohol, je etwa fünf Minuten, dann in die Farbe. Auch hier kann Wasser zwischen Alkohol und Farbe eingeschaltet werden.

Im übrigen ist die Weiterbehandlung im wesentlichen dieselbe, wie für nicht aufgeklebte Schnitte, nur ist zu beachten, dafs aufgeklebte Schnitte eher etwas länger in den Flüssigkeiten verbleiben müssen, da letztere nur von einer Seite einzuwirken vermögen.

Bei aufgeklebten Schnitten kann eventuell am Mikroskop bei schwacher Vergröfserung schon während des Auswaschens

durch Besichtigung der herausgenommenen Objektträger kontrolliert werden, ob die Färbung eine genügende ist, was besonders am deutlichen Hervortreten der Kerne erkennbar ist. Endlich hat sich der Anfänger beim Einlegen davor zu hüten, die falsche Seite des Objektträgers mit Canadabalsam und Deckgläschen zu versehen und die Schnitte abzuwischen.

239. Mit Hämatoxylin (rasch geschieht dies z. B. bei dem Böhmerschen) ist es möglich, zu stark zu färben, zu überfärben. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte dunkelblau geworden. Hier hilft ein Auswaschen in Wasser, auch wenn man es lange fortsetzt, nichts. Wohl aber können die Schnitte noch gut werden, wenn man solche aufgeklebte oder nicht aufgeklebte Schnitte in Wasser bringt, welchem etwas Säure zugesetzt ist, z. B. ein Tropfen Salzsäure auf 30 ccm Wasser. Hier bleiben die Schnitte, bis sie violett geworden sind (einen roten Schimmer bekommen). Dann kommen sie in Brunnenwasser und werden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Vorzügliche Dienste leisten auch andere Säuren, z. B. Schwefelsäure oder Oxalsäure. Für Oxalsäure hat man sich als Regel zu merken, dafs hier nur mit destilliertem Wasser gearbeitet werden darf, um Krystallbildung zu vermeiden.

Eine entgegengesetzte Korrektion von z. B. durch zu langes Verweilen in der Säure rot gewordenen Schnitten kann man hervorrufen, indem man dieselben sehr lange in fliefsendes Brunnenwasser bringt, oder rasch, indem man dem Wasser Spuren Salmiakgeist zusetzt, z. B. ein Tropfen auf 100 ccm. Die Schnitte werden dann wieder blau.

240. Was ist nun das Resultat einer gut gelungenen Hämatoxylinfärbung? Intensiv blau gefärbt ist das Chromatin der Kerne, leicht bläulich in verschiedenen Abstufungen die verschiedenen Bestandteile der Zellen, ziemlich stark färbt sich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels u. s. w.

241. Die **R. Heidenhainsche** (86) **Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Anfertigung der Farbe: Eine $^1/_3$%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin wird bereitet. Dieselbe kann frisch verwandt, aber im Licht nicht lange aufbewahrt werden.

Färbung: Die in Alkohol oder gesättigter Pikrinsäurelösung fixierten Objekte kommen in die Farbe für 24 Stunden, dann ebenfalls 24 Stunden in eine $^1/_2$%ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden *Farbwolken* rasch gefärbt und mufs daher mehrmals

gewechselt werden. Dann werden die Stücke in Wasser ausgewaschen und kommen in Alkohol von steigender Konzentration. — Alk. abs., Xylol, Paraffindurchtränkung ist zulässig. Bedingung ist Anfertigung feinster Schnitte von 5 μ und weniger. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

Am besten eignen sich für diese Färbung Präparate, welche mit Alkohol oder Pikrinsäure (siehe § 82 resp. 110) fixiert wurden. Wenn man eine $^1/_2$ %ige Hämatoxylinlösung und eine $^1/_2$ bis 1%ige Chromkaliumlösung nur wenige Stunden einwirken läfst, beide in grofsen Mengen, und letztere öfters wechselt, so erhält man nach Apathy eine reine aschgraue Färbung, die auch bei dickerem Schneiden noch deutliche Bilder gewährt.

242. Delafieldsches Hämatoxylin (siehe Prudden, 85). Um 600 ccm Flüssigkeit zu erlangen, löse man 4 g des krystallisierten Hämatoxylins in 25 ccm absoluten Alkohols. Diese Lösung gieſse man in 400 ccm einer konzentrierten wässerigen Ammoniak-Alaunlösung. Nach 3 bis 4 Tagen, während welcher die Flüssigkeit offen in einer Flasche im Lichte stehen gelassen wird, filtriert man und gieſst je 100 ccm Glycerin und Methyl-Alkohol hinzu. Nach ein paar Tagen filtriere man abermals; es wird diese Flüssigkeit vor dem Gebrauche gewöhnlich mit Wasser verdünnt.

Färbung wie beim Böhmerschen Hämatoxylin, mit Wasser auszuwaschen. Schnittfärbung.

243. Friedländersches (82) Hämatoxylin besteht aus:

Hämatoxylin	2,0
Alkohol	100,0
Aqua dest.	100,0
Glycerin	100,0
Alaun	2,0.

Eventuell kann der Lösung etwas Essigsäure zugesetzt werden, um Überfärbung zu vermeiden (Ehrlich). Färbung: Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kurzer Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und verändert binnen wenigen Minuten seine Färbung in blau. Stückfärbung gleichfalls möglich.

244. Kleinenbergsches (76) Hämatoxylin (alkoholisch). 1. Man bereitet eine gesättigte Lösung von krystallisiertem Chlorcalcium in 70%igem Alkohol und fügt so viel Alaun, als sich lösen will, hinzu. 2. Eine gesättigte

Lösung von Alaun in 70%igem Alkohol wird mit der ersteren im Verhältnis von 8 : 1 gemischt. 3. In diese Mischung bringt man tropfenweise Hämatoxylin in konzentrierter alkoholischer Lösung bis zur Blaufärbung des Ganzen. — Die Herstellung der Farbe erfordert infolge der unbestimmten Angaben persönliche Erfahrung. Die exakt färbende Flüssigkeit ist aber von Wert für Präparate, welche nicht mit wässerigen Flüssigkeiten in Berührung kommen dürfen.

245. Hämatoxylin-Eisenalaun nach M. Heidenhain (92 und 94). Mit Wasser, resp. mit schwachem Spiritus angeklebte Schnitte von Sublimatpräparaten kommen in eine 1/8%ige wässerige Eisenammoniumsulfatlösung auf 2—3 Stunden; nach kurzem Abspülen in Leitungswasser werden die Schnitte in 1/4%ige wässerige Hämatoxylinlösung auf 24 Stunden übertragen. Ausziehen der schwarzgewordenen Schnitte in derselben Eisenalaunlösung, welche mehrmals benutzt werden darf, bis der gewünschte Erfolg aufgetreten ist (Centrosomen, Gallenkapillaren). (Die Eisenlackhämatoxylinfärbung kann mit Vorteil noch kombiniert werden mit Vorfärbung von Bordeaux oder Rubin S. Man bringt die Schnitte in eine schwache Lösung eines dieser Farbstoffe, bis eine leicht rosarote Färbung eingetreten ist, dann kommen die Schnitte in die Eisenlösung und werden in der oben bezeichneten Weise weiter behandelt.)

246. Ein Hämatoxylin, bei welchem das lästige »Reifen« wegfällt, stellt Hansen (95) durch Oxydation der Hämatoxylinalaunlösung in der Wärme auf folgende Weise dar: a) 1 g Hämatoxylin wird in 10 g Alkohol abs. gelöst. b) 20 g Kalialaun werden in 200 g Aqua dest. warm gelöst, nach der Abkühlung wird filtriert. Am folgenden Tage Mischung von a) und b). 3 ccm von einer bei 15° C. konzentrierten wässerigen Kaliumpermanganatlösung mifst man in eine Porzellanschale, giefst dann die Hämatoxylinalaunlösung zu und erwärmt unter stetem Umrühren bis zum Sieden. Man läfst 1/2—1 Minute sieden, kühlt rasch ab und filtriert.

247. Renaut (81) empfiehlt Glycerinhämatoxylin Neutrales Glycerin sättigt man mit Alaun und fügt tropfenweise gesättigte alkoholische Hämatoxylinlösung, etwa 1/4 des Volumens, hinzu, bis ein Niederschlag entsteht. Ist zuviel Hämatoxylin ausgefallen, so mufs man Alaunglycerin hinzusetzen. Die so bereitete Flüssigkeit läfst man einige Wochen im Lichte stehen, bis der Alkoholgeruch verschwindet.

Glychämalaun von P. Mayer (96), sehr lange haltbar. Hämateïn 0,4 g, Alaun 5 g, Glycerin 30 ccm, dest. Wasser 70 ccm. Man löse unter Zerreiben im Mörser das Hämateïn in ein wenig Glycerin und setze dann den Rest des Glycerins nebst der (warm oder kalt bereiteten) Alaunlösung hinzu. Da leicht etwas Alaun ausfällt, so filtriere man die Lösung erst nach einigen Tagen.

248. Die besonderen Zwecken dienenden Hämatoxylinfärbungen von Weigert, Pal, Kultschitzky siehe § 496 ff, 499, 501, von Benda § 665.

Anilinfarben.

249. Für Karmin und Hämatoxylin bestehen für die Zubereitung ganz bestimmte Vorschriften. Anders ist es bei Anilinfarben, da die Färbekraft eines grofsen Teils derselben fast unabhängig von ihrer Konzentration ist. Für einige konnten bestimmte begründete Vorschriften gegeben werden, für andere sei es Regel, stets mit verhältnismäfsig dünnen (nicht konzentrierten) Lösungen lange Zeit zu färben. Ferner fertige man sich zum Aufbewahren nicht ganz wässerige Lösungen an, da man sonst vielfach Schimmelbildung bekommt, was, wenn nicht immer, so doch meistens schadet. Einfach vorzubeugen ist dem, wenn man als Lösungsmittel auf 2 bis 4 Wasser 1 Teil Alkohol zusetzt.

250. **Safranin** ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safraninlösung wird hergestellt nach Pfitzner (80):

1 Teil Safranin
100 Teile Alkohol abs.
200 Teile Aqua dest.

Man löse zunächst Safranin in Alkohol und setze nach erfolgter Lösung Wasser zu.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann wird in Alkohol abs. ausgezogen. Zieht man mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommene Schnitte, welche mit Safranin gefärbt sind, mit schwach saurem Alkohol abs. (bis zu $^1/_2$% Salzsäure) aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt: Chromatin. Alkohol abs., Xylol, Canadabalsam.

251. **Methylgrün** ist Kernfärbemittel. Zubereitung: 1 auf 100 aq. dest. (+ 25 Alkoh. abs.); es wird 10 Minuten gefärbt. Für 24stündige Färbung mit 20%igem Spiritus auf das Doppelte oder mehr zu verdünnen. Schnittfärbung, dann Waschen in Wasser, ausziehen in 70%igem Spiritus kurze Zeit (1—2 Minuten), Alkohol abs. 1 Minute, Xylol, Canadabalsam.

Die Hauptbedeutung des Methylgrüns im Vergleich zu Safranin liegt in seiner besseren Verwendbarkeit zu Mehrfachfärbungen.

252. Bismarckbraun nach Weigert (78). Anfertigung: 1 auf 100 Wasser wird aufgekocht und filtriert, dann wird ein Drittel des Volumens absoluter Alkohol zugesetzt. Färbung (Schnittfärbung): Die Färbezeit ist beliebig (etwa 2—24 Stunden), da Bismarckbraun nicht leicht überfärbt; dann auswaschen in Wasser; weiter in absoluten Alkohol, Xylol, Canadabalsam, auch aus Wasser in Glycerin. — Reine Kernfärbung.

253. Fuchsin, Anfertigung wie Safranin. Färbung ebenso.

Mehrfachfärbung.

254. Wendet man bestimmte Farben in Mischung oder nach einander auf denselben Schnitt an, so findet man die überraschende Thatsache, dafs sich nicht etwa alle Gewebsteile des Schnitts in der Farbe der Mischung färben, sondern die einen Gewebsteile mit der einen, andere mit der andern Farbe.

Man benutzt dieses ellektive Vermögen der Gewebe zur Färbung und spricht bei Anwendung von zwei Farben von einer Doppelfärbung, bei mehreren von Mehrfachfärbungen. Was sich bei gleicher Behandlung verschieden färbt, ist auch verschieden. Zu falschen Resultaten würde es dagegen führen, wollte man sich gleichfärbende Dinge deshalb für gleich halten; es können ganz verschiedene Gewebsteile ein gleiches Verhalten gegen Farbstoffe zeigen. Dies behalte man bei Doppelfärbungen und Mehrfachfärbungen stets im Auge.

Wenn sich ein Schnitt gegen zwei Farben ganz gleich verhält, so ist dies keine Doppelfärbung in unserem Sinne. Gute Doppelfärbungen geben nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen, solche haben aber auch grofsen Wert für histologische Untersuchung.

Beispiele von Mehrfachfärbungen: Man kann eine kernfärbende Farbe verwenden und hernach eine andere Farbe, welche dann das Chromatin nicht färbt, wohl aber den übrigen Teil des Kerns und der Zelle. Solche plasmafärbende Farben sind z. B. Eosin und Orange.

Einen andern Zweck verfolgt eine Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben; sie ermöglichen, verschiedene Teile des Kerns oder verschiedene Kernarten auseinander zu kennen.

Man kann auch wieder mehrere nicht kernfärbende Farben mit einer kernfärbenden zusammenstellen und erhält so drei- und mehrfache Färbungen.

Eine Reihe von Farben werden angewandt zu ganz bestimmten Zwecken. Diese werden bisweilen auch verbunden mit einer kernfärbenden Farbe.

Im nachfolgenden ist eine Auswahl der wichtigeren Mehrfachfärbungen zusammengestellt, und zwar der Reihe nach: Anwendung verschiedener Farben zugleich mit Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün.

Als geeignete Farbe zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin empfiehlt sich besonders Eosin; mit diesem ist die Doppelfärbung einzuüben (siehe § 261).

255. Pikrokarmin. Bereitung nach **Ranvier** (89). Man gießt in eine gesättigte Lösung von Pikrinsäure, in Ammoniak aufgelösten Karmin bis zur Sättigung. Man verdampft die Flüssigkeit bis auf ein Fünftel ihres Volumens auf dem Wasserbade. Nach dem Erkalten setzt sich ein geringfügiger Niederschlag von Karmin ab, der durch Filtration getrennt wird. Bei der weiteren Verdunstung läßt die Mutterlauge das feste Pikrokarmin unter der Form eines krystallinischen Pulvers von der Farbe des roten Ockers zurück. Dieses Pulver muß sich vollständig in destilliertem Wasser auflösen. Eine 1%ige Lösung ist die geeignete.

Färbung. Zu einem Schnitt wird ein Tropfen des Pikrokarmins auf dem Objektträger zugesetzt und 24 Stunden in feuchter Kammer gefärbt (mit Eiweiß aufgeklebte Schnitte werden durch Pikrokarmin abgelöst). Der Tropfen wird mit Fließpapier aufgesaugt, und das Präparat mit einem Deckglase bedeckt. Man läßt nun Ameisensäure-Glycerinwasser zufließen, und nach ein paar Tagen, oft erst nach einer Woche, ersetzt man dieselbe durch reines Glycerin. Dann kommt es zu einer typischen Differenzierung: die Kerne werden rot, elastische Fasern kanariengelb, Muskeln bräunlichgelb, Bindegewebe rosa, Keratohyalin rot, verschiedene Hornsubstanzen gelb u. s. w.

Andere Karmine, die unter dem Namen Pikrokarmine bekannt sind und namentlich in der Weise angewandt werden, daß man die gefärbten Schnitte in der gewöhnlichen Weise in Canadabalsam überträgt, liefern niemals eine so vollkommene Differenzierung.

256. Weigertsches (81) **Pikrokarmin.** 2 g Karmin werden mit 4 ccm Ammoniak übergossen und bleiben 24 Stunden, geschützt vor Verdunstung, stehen; es werden dann 200 g wässerige konzentrierte Pikrinsäure zugesetzt und wiederum 24 Stunden stehen gelassen. Es werden nun ganz kleine Mengen Essigsäure hinzugesetzt, die einen sehr geringen Niederschlag verursachen, der auch beim Umrühren nicht

verschwindet. Nach 24 Stunden filtriert man. Geht der feine Niederschlag durch den Filter, so setze man Spuren von Ammoniak hinzu, wodurch der Niederschlag gelöst wird. Löst Eiweifs ab.

257. Karmin-Bleu de Lyon. Man schicke eine Karminfärbung (Stück- oder Schnittfärbung, z. B. Alaunkarmin, Boraxkarmin) voraus. Bleu de Lyon wird in absolutem Alkohol gelöst und so stark mit absolutem Alkohol verdünnt, dafs die Flüssigkeit kaum mehr blau erscheint. Darin werden die Schnitte 24 Stunden nachgefärbt. Die Färbung ist als Doppelfärbung für allgemeine Zwecke geeignet; ihre Verwendung für spezielle Zwecke siehe § 416.

258. Boraxkarmin-Indigokarmin (Rezept nach Norris und Shakespeare [77].)

Anfertigung: Karmin 2
Borax 8
Aqua dest. 130

werden in der Reibschale gemischt und möglichst gelöst; das Ganze bleibt 24 Stunden stehen, dann wird das Flüssige abgegossen und filtriert.

Ebenso werden behandelt:

Indigokarmin 8
Borax 8
Aqua dest. 130

Von den beiden Filtraten werden dann je gleiche Teile gemischt.

Anwendung. Nicht mit Eiweifs aufgeklebte Schnitte (Eiweifs wird durch die Oxalsäure abgelöst) kommen nacheinander je 20 Minuten in die Farbe, dann in konzentrierte wässerige Oxalsäurelösung, dann in absoluten Alkohol; eingeschlossen wird: Xylol, Canadabalsam. Die Übertragung mufs direkt von einer Flüssigkeit in die andere in der angegebenen Weise geschehen, es darf nicht z. B. mit Wasser abgespült werden.

Vor kurzem machte Paul Mayer (96) darauf aufmerksam, dafs Indigokarmin in folgender einfacherer Weise angewandt werden kann. Er setzt von einer Lösung von 0,1 g Indigokarmin in 50 ccm dest. Wasser (oder 5%iger Alaunlösung) dem Hämalaun oder dem Karmalaun nach Bedürfnis $^1/_{20}$—$^1/_5$ seines Volumens zu.

259. Alaunkarmin-Dahlia, Westphal (siehe Ehrlich [76], § 339).

260. Die **Pikrinsäure** als zweite Farbe ist aufser ihrer Anwendung in der Form, wie es bei den Pikrokarminen geschieht, auch zu anderen Doppelfärbungen geeignet. Man hält sich eine gesättigte wässerige Lösung vorrätig (wie für die Fixation). Diese wird für die Färbung im

Verhältnis von 1 : 3 mit Wasser verdünnt. Diese Lösung kann zur Nachfärbung von mit Karmin, Hämatoxylin oder Safranin vorgefärbten Präparaten benutzt werden. Bei Schnitten genügt kurze Nachfärbung 2—5 Minuten. Dann wird in Wasser ausgewaschen, Alkohol, Xylol, Canadabalsam. Beim Auswaschen behalte man im Auge, dafs die Pikrinsäure in fliefsendem Wasser rasch fast vollständig weggeht; man kann jedoch schon mit bloſsem Auge den Moment erkennen, in welchem der Schnitt eben noch einen gelben Ton besitzt. — Weiter kann diese Nachfärbung mit Pikrinsäure auch im Stück geschehen; dieselbe erfolgt je nach der Gröſse des Objekts in 2—24 Stunden. Auf Präparate, welche mit Boraxkarmin im Stück gefärbt sind, wirkt die Pikrinsäure als Säure (Karmin ausziehend), es können daher solche Stücke direkt aus dem Boraxkarmin in die Pikrinsäure übertragen werden (ohne vorher in sauren Alkohol zu kommen). Wenn man Stücke zuerst in Pikrinsäure auf 24 Stunden legt und dann mit Karmin, z. B. Alaunkarmin, nachfärbt, erhält man für manche spezielle Zwecke gute Färbungen. So können sowohl in Pikrinsäure selbst fixierte Stücke behandelt werden, als auch z. B. in Sublimat oder Alkohol fixierte. Für manche Zwecke wird Pikrinsäure auch in alkoholischer Lösung angewandt.

261. Hämatoxylin-Eosin. Zeitlich getrennte Färbung. Für diese Doppelfärbung wird zunächst (nach § 236) ein Präparat in Hämatoxylin gut gefärbt und mit Wasser ausgewaschen. Dieses Präparat kommt in eine Eosinlösung. Es empfiehlt sich, eine 1%ige Eosinlösung in Wasser anzufertigen. Für die meisten Objekte genügt es, diese Lösung um das 3 bis 5fache zu verdünnen. Darin bleiben die Schnitte 3—5 Minuten. Bei stärkeren Lösungen genügt etwa 1 Minute; dann werden sie zunächst gut in Wasser ausgewaschen. Dasselbe mufs so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr rot erscheint. Nun kommen die Schnitte für 2—5 Minuten in 96%igen Alkohol, von da je 1 Minute in absoluten Alkohol, Xylol, Canadabalsam. Es ist sehr wesentlich, dafs die Eosinfärbung nicht zu stark ist, da ein überfärbtes Präparat undeutlich wird.

Korrektion von mit Eosin überfärbten Präparaten ist möglich durch Ausziehen mit schwächerem Alkohol 70% oder 80%; Zeit: Minuten, eventuell Stunden.

Eosin wurde als Tinktionsmittel von Fischer (75) vorgeschlagen.

262. Rawitz (95b) empfiehlt, zuerst mit Eosin und hernach mit Hämatoxylin zu färben. Er färbt in sehr verdünnter Eosinlösung (1—3 Tropfen der konzentrierten Eosinlösung auf 25—50 ccm destilliertes Wasser) 24 Stunden. Dann wird flüchtig (bis 10 Minuten) in destilliertem Wasser abgewaschen, in einer entsprechend verdünnten Hämateïn- bezw. Hämatoxylinlösung gefärbt und wie üblich weiter behandelt. Wir haben nach diesem Verfahren gute Resultate erhalten.

263. Hämatoxylin-Eosin-Mischung. Renaut.

Zu seiner Hämatoxylinlösung (siehe § 247) setzt man gesättigte wässerige Eosinlösung zu, bis eine Trübung entsteht. In Alaunglycerin löst sich nur wenig Eosin; will man eine mehr eosinhaltige Flüssigkeit erhalten, so sättige man Kochsalzglycerin mit Eosin und füge diese Lösung zum Hämatoxylin-Glycerin hinzu.

Will man in Canadabalsam übertragen, so mufs man die so tingierten Schnitte mit eosinhaltigem Wasser und Alkohol behandeln, da sonst Eosin sich leicht löst, und alsdann keine Doppelfärbung erzielt wird.

264. van Giesonsche Färbung (cit. nach v. Kahlden 95). 1. Härtung in Müllerscher Flüssigkeit oder in Alkohol. 2. Färben $^1/_2$ Stunde lang in Hämatoxylin. 3. Gründliches Auswaschen in Wasser. 4. Färben 3—5 Minuten lang in einer Mischung von Pikrinsäure, gesättigte, wässerige Lösung und Säurefuchsin, gesättigte wässerige Lösung so viel, dafs die Mischung eine tiefrote Farbe erhält. 5. Abspülen in Wasser, $^1/_2$ Minute lang. 6. Spiritus, Alkohol, Hopfenöl, Canadabalsam. Die Methode ist sehr bequem zu handhaben und gibt eine sehr schöne Doppelfärbung. Die Kerne werden braunrot, das Zwischengewebe leuchtend rot. Ein weiterer Vorteil ist die gleichzeitige Färbung von Amyloid, Colloid, Hyalin und Schleim. van Gieson hat ursprünglich die Hämatoxylinlösung von Delafield empfohlen. Die gewöhnliche Alaunhämatoxylinlösung gibt aber sehr gute Resultate. Man überfärbt die Schnitte, weil die Pikrinsäure zum Teil eine entfärbende Wirkung ausübt.

265. Hämatoxylin-Orange G. Es kann nach der Kernfärbung mit Hämatoxylin (z. B. nach Böhmer) mit Orange G in ähnlicher Weise und mit ähnlichen Resultaten wie mit Eosin nachgefärbt werden; doch empfiehlt es sich hier, mit stärkeren Lösungen, etwa 1%ig, ungefähr 24 Stunden oder auch kürzere Zeit zu färben, in 96%igem Alkohol zu extrahieren, absoluter Alkohol, Xylol, Canadabalsam.

266. Hämatoxylin-Congorot siehe § 538f.

267. Hämatoxylin-Safranin (Rabl, 85). Man färbe die mit Chromameisensäure oder Platinchloridlösung (siehe § 114 und 115) fixierten Schnitte mit Delafieldschem Hämatoxylin nur wenig intensiv, wasche sie mit Wasser event. in schwach angesäuertem Alkohol und färbe mit Safranin (filtrierte gesättigte alkoholische Safraninlösung 1 Volumen + 2 Volumina Wasser) 12—24 Stunden (2—4 Stunden genügen in der Regel); darauf werden die Objekte mit absolutem Alkohol so lange behandelt, bis sie keine roten Wolken mehr abgeben.

268. Hämatoxylin-(Heidenhain-)Karmin.

Nach der Heidenhainschen Stückfärbung kann man noch eine gute Kerntinktion erzielen, wenn man beispielsweise wieder im Stück mit Grenacherschem Alaunkarmin färbt oder die Schnitte mit Böhmerschem Hämatoxylin nachfärbt.

269. Safranin-Anilinblau (Garbini, 86).

Anfertigung: Wasserlösliches Anilinblau 1 g
Destilliertes Wasser . . . 100 ccm
Absoluter Alkohol . . . 1—2 ccm
Safranin wie in § 240.

Die Schnitte kommen 1—4 Minuten in die erste Lösung, dann werden sie mit Wasser abgewaschen und in eine 1%ige Lösung von Ammoniak in Wasser gebracht, bis sie fast völlig ihre Farbe verloren haben. (Vorsicht bei mit Eiweifs aufgeklebten Schnitten!) Dann kommen sie in eine 0,5%ige Salzsäurelösung auf 5—10 Minuten, werden in Wasser ausgewaschen und endlich 4—5 Minuten in Safranin gefärbt; absoluter Alkohol, Nelkenöl, Xylol, Canadabalsam.

270. Methylgrün-Eosin in Mischung.

1%ige wässerige Methylgrünlösung, davon 60 Teile.
1%ige wässerige Eosinlösung, davon 1 Teil.
Durch Alk. abs. auf 100 Teile zu ergänzen.
10 Minuten färben, in Wasser 5 Minuten auswaschen.
Alk. abs. 1 Minute. Xylol. Canadabalsam.

Bei dieser und der folgenden Färbung ist Methylgrün Kernfärbemittel, die begleitende Farbe Eosin resp. Fuchsin S. färbt andere Zellteile.

271. Methylgrün kann mit Fuchsin S. in Mischung verbunden werden, auf 1%ige wässerige Methylgrünlösung 60, 1%ige wässerige Fuchsin-S.-Lösung 20; gefärbt wird wie im vorigen, aber nur kurz im Wasser ausgewaschen, da das Fuchsin S. in Wasser rasch weggeht, dann Alk. abs., Xylol, Canadabalsam.

272. Eine Färbung mit Methylgrün und Safranin nach einander kann für spezielle Zwecke zur Differenzierung verschiedener Kerne vorteilhaft sein.

273. Methylgrün-Fuchsin S.-Orange. — (Biondi-Ehrlich) von R. Heidenhain (88) empfohlen und modifiziert.

Anfertigung: Es werden gesättigte wässerige Lösungen der 3 Farben angefertigt. Dieselben müssen mehrere Tage stehen und öfters geschüttelt werden. Dann werden gemischt:

100 ccm Orange,
20 » Fuchsin S.,
50 » Methylgrün.

Es empfiehlt sich, die Farbmischung als Pulver direkt von Grübler in Leipzig zu beziehen. Färbung: Zur Färbung wird 1 Teil der gesättigten Lösung mit 60—100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt und dann in Alkohol ausgezogen. Alk. absol. Xylol-Canadabalsam. Geeignet für Sublimatpräparate. Bietet aufser den bei Methylgrün-Eosin und Fuchsin S. erwähnten Resultaten noch Färbung der Blutkörperchen orange.

Die ursprüngliche Ehrlich-Biondische Lösung ist von der gesättigten Lösung 10 ccm Orange, 1 ccm Fuchsin S., 3 ccm Methylgrün.

M. Heidenhain (92 und 94) entnehmen wir: Die besten Resultate geben in Sublimat oder mit Sublimatgemischen fixierte Präparate. Zubereitung der Farbe: Rubin S. (löst sich 20 g in 100 ccm Wasser), Orange G. (8 g in 100 Wasser), Methylgrün (8 g in 100 Wasser). Die gesättigten wässerigen Lösungen werden im Verhältnis 4 : 7 : 8 zusammengegossen = Stammlösung. Zur Färbung wird 1 ccm der Stammlösung auf 50 oder 100 ccm Wasser verdünnt. Zeit der Färbung 24 Stunden (mit Wasser resp. dünnem Spiritus angeklebte Schnitte). Vor der Färbung ist es manchmal vorteilhaft, die Schnitte 1—2 Stunden in 2‰ Essigsäure zu belassen. Ausziehen mit reinem oder etwas angesäuertem 90%igem Alkohol.

274. Einige seltener angewandte Anilinfarben, welche für die Färbung Bedeutung haben, sind:

Benzoazurin, von Bonnet empfohlen zur Kernfärbung, namentlich für schlecht konservierte Präparate, welche sich nur schwer färben lassen; löst in stärkeren Konzentrationen Eiweifs ab.

Indulin für spezielle Zwecke (siehe § 312, 337, 338).

Methylenblau (siehe § 313, 340f, 455, 477, 491 ff., 544, 728).

Nigrosin.

Orcëin (siehe § 274, 364, 675).

Thionin in wässeriger Lösung färbt die Kerne auch alter Präparate (wie Benzoazurin) sehr distinkt; es färbt Schleim blaurot, metachromatisch (siehe § 544).

275. Tabelle der häufiger angewandten Mehrfachfärbungen.

Karmin.

Karmin-Hämatoxylin § 415.
» -Indigokarmin § 258.
» -Dahlia § 339.
» -Pikrinsäure § 260.
» -Bleu de Lyon § 257.
» -Pikrokarmin § 255, 256.

Hämatoxylin.

Hämatoxylin-Eosin § 261.
» -Orange § 265.
» -Pikrinsäure § 260.
» -Safranin § 267.
» -Pikrokarmin.
» -Congorot § 538.
Hämatoxylin (nach R. Heidenhain)-Karmin § 268.
» -Fuchsin-S.-Pikrinsäure § 264.

Safranin.

Safranin-Anilinblau § 269.
» -Gentianaviolett § 663.
» -Gentianaviolett-Orange § 292.
» -Methylgrün § 272.
» -Pikrinsäure § 260.

Methylgrün.

Methylgrün-Eosin § 270.
» -Fuchsin S. § 271.
» -Fuchsin S. Orange § 273.

Weitere Literatur zu Kapitel 8: Gierke 84, 85.

9. Kapitel.

Rekonstruktionsmethoden.

276. Beim Untersuchen, Zeichnen, Photographieren von Schnitten erhält man stets nur ein Bild dessen, was ein Schnitt zeigt. Methoden, welche ermöglichen, das, was nur bei Betrachtung mehrerer Schnitte nacheinander gesehen werden kann, in einem Bild (sei es eine Zeichnung oder ein plastisches Modell) zu vereinigen, nennt man Rekonstruktionsmethoden.

Die Rekonstruktionsmethoden sind für die Untersuchung zwar nützlich, aber zeitraubend, werden daher im allgemeinen

mit Vorteil nur dann angewandt, wenn es sich darum handelt, über schwierige räumliche Verhältnisse Klarheit zu erhalten, oder schon vorher gewonnene Untersuchungsergebnisse etwa zur Demonstration klar vor Augen zu führen, namentlich bei embryologischen Untersuchungen.

277. Die einfachste Rekonstruktionsmethode besteht im Aufeinanderzeichnen mehrerer Schnitte, etwa mehrerer Querschnitte durch einen Embryo; dabei bedient man sich mit Vorteil als festen Punktes für das Aufeinanderpassen der Schnitte irgend eines gerade verlaufend gedachten Gewebsteiles, z. B. Chorda dorsalis oder bei annähernd gleich grofsen Querschnitten die Konturen der Epidermis.

278. Weiter kommt man, wenn man sich das, was man in einem Schnitte sieht, auf eine Linie projiziert denkt und diese Projektion unter Benützung des Okularmikrometers zeichnet. Dann zeichnet man neben diese Linie eine zweite, enthaltend das, was der nächste Schnitt zeigt, und so fort. Auch hier braucht man, um die Schnitte richtig aneinander zu passen, eine Richtungslinie. Man erhält mit dieser Methode recht brauchbare Resultate.

Notwendig ist hierfür eine richtige Berechnung der Vergrörserung (siehe § 55 f.), und zwar mufs berechnet werden, wie stark das entworfene Bild vergrörsert ist. Ist beispielsweise die Vergrörserung eine hundertfache und die Schnittdicke 10 μ, so mufs die Entfernung der Linien, in welche die Projektionen eingetragen werden, dementsprechend sein 100 . 0,01 mm = 1 mm. Für diesen Fall ist das käufliche Millimeterpapier für die Anlage der Zeichnung besonders geeignet, dasselbe kann aber auch bei anderen Vergrörserungen, richtige Berechnung vorausgesetzt, angewandt werden.

Die angeführten Methoden eignen sich z. B. für das Aufzeichnen des Verlaufs von Nerven oder Blutgefäfsen in einem gerade gestreckten Embryo.

279. Grörsere Vorteile, aber auch mehr Zeitaufwand sind mit den plastischen Rekonstruktionsmethoden verbunden. Das Prinzip derselben beruht darauf, dafs man sich die Schnitte nach einander auf Platten, deren Dicke der gewählten Vergrörserung im oben erwähnten Sinne entspricht, aufzeichnet, dieselben ausschneidet und dann, indem man sie auf einander klebt, zu einem Modell vereinigt. Für die richtige Aneinanderpassung der Schnitte ist vor allem die Einführung bestimmter Richtungslinien nötig, also etwa zweier durch das Objekt gezogener gerader Linien, deren Schnittpunkte im Schnitt sichtbar sind, angezeichnet und ausgeschnitten und dann direkt aufeinander gelegt werden. Da die an den Objekten selbst sich findenden Linien meist nicht gerade verlaufen, hat man angefangen, aufserhalb des Objekts liegende Linien zu ver-

wenden, was ein sehr fördernder Schritt war. (Strasser und Kastschenko.)

280. Die **Platten-Modelliermethode,** bei deren Schilderung wir in vielen Punkten den Angaben Borns folgen, besteht:

a) im Anbringen der Richtungslinien an dem mit Paraffin durchdränkten Objekt;

b) Schneiden, Aufkleben und Einlegen der Schnitte in Canadabalsam;

c) Zeichnen der Schnitte;

d) Verarbeiten der Zeichnungen zu Platten;

e) Ausschneiden der Platten und Aufeinanderkleben der Ausschnitte.

281. Instrumentarium: Nötig sind aufser den schon bisher geschilderten (Mikrotom mit Orientierungsapparat, Mikroskop mit Zeichenapparat, resp. Thomascher Zeichenapparat für schwache Vergröfserungen u. s. w.) folgende Gegenstände: für a) erstens: ein Objektcylinder, auf welchem das Objekt in der gewöhnlichen Weise befestigt wird; zweitens: ein zweiter Objektcylinder mit einem Ring, in welchem der erste Objektcylinder unter einem rechten Winkel zur Achse des zweiten Cylinders eingesteckt, um seine eigene Achse gedreht und festgeschraubt wird.

An Stelle beider Instrumente kann auch nur ein einziger Cylinder dienen, dessen Platte um 90° drehbar ist und dann festgestellt werden kann.

Alle diese Instrumente können durch Jung in Heidelberg bezogen werden.

Drittens: ein Ritzer (nach Keibel, 94) (bezweckt, am Paraffinblock parallele Rinnen einzuritzen), zu beziehen durch Mechanikus Elbs in Freiburg i. B., Friedrichstr. 17.

Für d) erstens: ein glatter grofser Lithographiestein.

Zweitens: eine Serie von Messingstreifenpaaren verschiedener Dicke. Länge und Breite sind bei allen 50 cm und 1½ cm. Die Dicken sind: 0,4—0,6—0,9—1,0—1,2—1,5—1,8 und 2 mm.

Drittens: eine eiserne Walze. — Diese Instrumente können durch Mechanikus Kleinert in Breslau bezogen werden.

Die Achse der Walze dreht sich jederseits in den umgebogenen Enden eines eisernen Bügels, der in 1 cm Entfernung von der Peripherie der Walze der Längsachse derselben parallel läuft. An der äufseren Seite der Bügelenden sitzen die Griffe. Die Walze liegt in einem Einsatz, in welchem sie erhitzt werden kann.

Die für d) nötigen Instrumente sind nur zu beschaffen, wenn man die Platten selbst walzen will, was billiger ist, vor

allem, da das beim Ausschneiden abfallende Wachs wieder verwendet werden kann. Andernfalls kann man Wachs-Modellierplatten von verschiedener Dicke durch G. Grübler in Leipzig beziehen und direkt auf die Platten zeichnen.

282. Anbringung der Richtlinien. Das im Stück gefärbte und mit Paraffin durchtränkte Objekt wird in der Richtung, in welcher es geschnitten werden soll, auf der Platte des Cylinders in der gewöhnlichen Weise aufgeschmolzen und mit dem Orientierungsapparat gut orientiert. Dann wird an dem Objekt eine Ebene angeschnitten, welche auf der Schnittebene senkrecht steht. Dies geschieht mit dem Mikrotommesser, indem man den Objektcylinder in den zweiten steckt und diesen in den Objektschlitten einsetzt, oder bei der umklappbaren Platte, indem man dieselbe umklappt. Diese Ebene mufs nun dem Objekt möglichst nahe liegen, natürlich nicht so nahe, dafs z. B. bei kleinen Embryonen die Zacken des Schnittritzers das Objekt selbst anschneiden könnten. Dann wird das Objekt etwas gesenkt, der Keibelsche Ritzer am Messer befestigt. Dadurch, dafs man das Objekt entsprechend hebt, kann man jetzt leicht erreichen, dafs die kleinen Zähne beliebig tief in die Richtebene eingreifen, und kann nun durch die Bewegung des Messerschlittens die Richtlinien anlegen. Nun wird mit dem Mikrotommesser noch einmal eine ganz dünne Schicht von der Richtebene abgetragen. Es geschieht dies, um die Unebenheiten, welche beim Einritzen entstehen, zu beseitigen. Ein feiner weicher Pinsel entfernt die Paraffinkörnchen, welche etwa in den Ritzen stecken geblieben sind. Dann färbt man die Richtebene mit den Richtlinien folgendermafsen: 1. Man bringt auf die Richtebene etwas Rufs und breitet denselben mit einem quer abgestutzten, dicken Pinsel zu einer feinen Schicht aus, welche auch die Ritzen auskleidet. Allen überflüssigen Rufs entfernt derselbe Pinsel. Dann bestäubt man mittels eines gewöhnlichen Zerstäubers die berufste Fläche mit einer dünnen Schellacklösung in Alkohol abs. Zum Schlufs überstreicht man die Fläche mit einem Pinsel mit derselben Lösung. Nach 5—10 Minuten ist das Schellackhäutchen trocken. Oder 2. Man bringt 1 ccm konzentrierte Schellacklösung (in absolutem Alkohol) in 100 ccm Alkohol absolutus und setzt 10 g Bismarckbraun zu, schüttelt öfter um und filtriert, wenn die Flüssigkeit dunkelbraun geworden ist. Mit dieser Lösung bestreicht man die Richtfläche, die Richtlinien müssen sich füllen, und läfst trocknen. Hat man darnach das Objekt wieder in seine ursprüngliche Stellung zurückgebracht, so kann geschnitten werden. Will man Bänder schneiden, was sich hier wenig empfiehlt, so kann man vorher von der Richtebene noch einmal eine dünne Schicht abtragen, da die Ritzlinien als Marken für die Rekonstruktion genügen.

283. Schneiden, Aufkleben, Einschliefsen. Es empfiehlt sich, mit dem Quermesser zu schneiden, für gewöhn-

liche Zwecke genügen Schnitte von etwa 15 μ Dicke. Um glatt ausgebreitete Schnitte, was hier sehr wichtig ist, zu erhalten, ist die im folgenden geschilderte Aufklebemethode besser als Eiweifsaufkleben. Man mische: 2 Vol. Collodium, 2 Vol. ther, 3 Vol. Ol. Ricini, damit wird der Objektträger mittels eines Glasstabes in dünner Schicht überzogen. Nachdem man die Schnitte aufgelegt hat, erwärmt man den Objektträger ein wenig, Paraffin soll nicht schmelzen. Am besten geschieht dies auf einem Wärmtisch von Metall, unter dessen eines Ende eine Spiritusflamme gestellt wird. Ist ein Objektträger voll, so überstreicht man die ganze die Schnitte tragende Fläche mit einem breiten, weichen Pinsel mit der Collodium-Ricinusölmischung. Jetzt kommen die Objektträger direkt in Xylol, von da in Canadabalsam. Absoluter Alkohol ist ausgeschlossen, daher Stückfärbung.

284. Zeichnen. Es müssen wenigstens zwei, besser drei Zacken (Querschnitte der Richtlinien) mitgezeichnet werden. Es empfiehlt sich, beim Zeichnen sofort ein Duplikat zu nehmen, was durch Unterlegen eines farbigen Pauspapieres beim Zeichnen erreicht wird.

285. Anfertigung der Platten. Wir folgen hier zum Teil wörtlich Born: »Auf der Mitte des Arbeitstisches liegt der Lithographiestein, an seiner rechten Seite steht auf einem Dreifufs der Tiegel mit gelbem Wachs (gewöhnliches gelbes Wachs), das durch eine darunter gestellte kleine Gasflamme flüssig erhalten wird; daneben ein zweiter, gröfserer und höherer Dreifufs, auf dem die Walze liegt, die durch eine grofse dreifache Gasflamme stark erhitzt wird.« »Hinter dem Lithographiestein steht ein weithalsiges Gefäfs mit Terpentinöl, in dem zwei (ein gröfserer und ein etwas kleinerer) flache, breite Borstenpinsel stecken. An der linken Seite des Steines (von dem davorstehenden Arbeiter aus links) liegen a) auf einem Stofs die Blätter mit den Zeichnungen. Dieselben werden auf gleichgrofsen rechteckigen Blättern eines möglichst ungeleimten Papieres angefertigt. b) Ein grofser Stofs ebensolcher oder etwas gröfserer, rechteckiger Blätter Fliefspapier.« »Nun wird folgendermafsen verfahren: Man legt auf die Längsseitenränder des Steines die beiden Messingstreifen, die der Dicke der Platte, welche man zu haben wünscht, entsprechen. Jeder Streifen liegt etwa 4 cm von dem betreffenden Rande des Steines entfernt. Dann wird der Zwischenraum zwischen den beiden Streifen und diese selbst mittels des breiteren Pinsels reichlich mit Terpentinöl bestrichen. In die Mitte des Zwischenraumes wird das Blatt mit der Zeichnung aufgelegt, die bezeichnete Seite nach unten gegen den Stein gewendet. Darauf bringt man ein Blatt Fliefspapier und streicht es mit der Hand von der Mitte aus glatt; so legt sich das Blatt mit der Zeichnung gleichmäfsig an den Stein an, und zugleich wird durch das Fliefspapier das überschüssige

Terpentinöl von der Papierfläche entfernt. Darauf feuchtet man den Stein rings um das Papier noch einmal mit Terpentinöl an. Nun schöpft man mit einer Kelle, die in dem Tiegel mit dem geschmolzenen Wachs lag, eine Quantität desselben aus und gießt es möglichst gleichmäßig über die Papierfläche aus. Mit einiger Übung lernt man sehr bald, das Wachs in genügend dicker Schicht ausbreiten und nicht mehr nehmen, als man ungefähr auf eine Platte braucht. Wenn das Wachs zu erstarren beginnt — es schadet aber auch nicht, wenn es noch eben flüssig ist —, ergreift man die stark erhitzte Walze und rollt sie auf dem Messingstreifen rasch einmal über die Wachsfläche hin. Dadurch wird die Wachsschicht ungefähr auf die gewünschte Dicke gebracht und gleichmäßiger ausgebreitet.« »Schließlich umschneidet man mit einem flachen hölzernen Falzmesser die Ränder der Platte, schiebt an einer Ecke das Falzbein darunter und hebt dieselbe, während sie noch halbweich ist, ab. Die fertigen Platten werden auf einem flachen Tisch mit eingeschalteten Fließpapierblättern zu einem Haufen aufgetürmt und mit einem Modellierbrett oder dgl. belastet. Nach einer Stunde kann man sie herausnehmen und auf irgend einer Platte zum Trocknen ausbreiten.« »Ehe man von neuem beginnen kann, muß der Stein natürlich gereinigt werden. Das Abkratzen des über die Ränder des Papiers geflossenen und ausgedrückten Wachses gelingt mit dem hölzernen Messer sehr leicht, vorausgesetzt, daß man am Anfang die Umgebung des Papiers recht reichlich mit Terpentinöl befeuchtet hatte; jede Vernachlässigung dieser Regel straft sich dadurch, daß man mit dem Reinigen größere Mühe hat und längere Zeit dazu braucht. Der breitere Terpentinöl-Pinsel vollendet dann das Reinigungswerk und feuchtet die Steinfläche gleichzeitig wieder mit Terpentinöl an.« Im Anfange der Arbeit, so lange der Stein noch kalt ist, springen die Wachsplatten, wenn man mit den Manipulationen nicht sehr rasch bei der Hand ist.

286. Ausschneiden und Aufeinanderkleben der Platten: Das Ausschneiden beginne man mit den Hohlräumen. Man schneide mit scharfem Messer, indem man die Platte auf ein Brett auflegt. Man läßt Verbindungsbrücken zwischen dem Modell und den Zacken zunächst stehen und die Zacken unter sich durch ein breites Band, welches event. der Richtebene entspricht, verbunden.

Das Aufeinanderkleben der Platten: Man legt die Durchschnitte der gezackten Richtlinien genau senkrecht aufeinander. Die Ausschnitte fallen dann von selbst richtig aufeinander, es hängt dies selbstverständlich von der Güte der Schnittserie ab. Differenzen von $^1/_2$—1 mm bei einer etwa 60fachen Vergrößserung liegen jedoch vollkommen innerhalb der Fehlergrenze. Die aufeinandergelegten Querschnitte werden durch Überstreichen mit dem heißen, eventuell in Wachs getauchten Spatel vor-

läufig aneinander befestigt. Hat man so 4—5 (oder mehr) Querschnitte übereinander befestigt, so gleicht man die Stufen zwischen den einzelnen Schnitträndern mit dem heifsen Spatel aus. Sind die Ausschnitte aufeinander befestigt, so werden die provisorischen Verbindungsbrücken, die entbehrlich sind, weggeschnitten; solche, die zu ganz freien Teilen gehen, bleiben stehen, bis diese mit dem Hauptstücke in Zusammenhang getreten sind. Ist nur die äufsere Oberfläche des Organs von Interesse, oder kann man gröfsere Höhlen durch Einschneiden von Fenstern am fertigen Modell genügend eröffnen, so arbeitet man das Ganze aus einem Stück. Will man dagegen den Einblick in engere Spalten im Innern erhalten oder sonstwie verdeckte Teile sehen, so kann man das Modell in Stücke zerlegen. Zum Ende kann man das ganze Modell mit Terpentinöl innen wie aufsen überstreichen und mit dem heifsen Spatel glätten. Das fertige Modell kann man mit Wachsfarben überstreichen.

Weitere Literatur für Kapitel 9: Born (83, 88); His (68, 87); Kastschenko (86, 87, 88); Strasser (86, 87.)

287. Tabelle der Termini technici.[1])

Ein Organ wird **fixiert, konserviert,** es braucht für die Regel nicht **gehärtet** zu werden; **Härtung** ist nur ausnahmsweise notwendig, z. B. für das Schneiden mit dem Rasiermesser. Nach der Fixierung wird das Objekt eventuell **ausgewaschen** und dann mit Alkohol **nachbehandelt,** um wasserfrei gemacht zu werden (nicht um gehärtet zu werden). Dann wird es mit Paraffin etc. **durchtränkt.** Die **Durchtränkung** gliedert sich in verschiedene Abschnitte; das Objekt mufs zuerst mit Xylol etc., dann mit Mischung, dann mit reinem Paraffin durchtränkt werden. Dies geschieht, indem das Objekt aus einer dieser Flüssigkeiten in die andere übertragen wird.

Dann wird das Objekt in eine Form **eingebettet,** dabei mufs es **orientiert** werden. Vor dem Schneiden am Mikrotom mufs das Objekt in den Objekthalter **eingespannt** werden, nachdem es auf einem Cylinder, Holzblock etc. **befestigt, aufgeschmolzen** ist. Dann wird es eventuell mit dem Orientierungsapparat orientiert werden. Je nachdem das Objekt mit Paraffin oder Celloidin durchtränkt war, erhält man **Paraffinschnitte, Celloidinschnitte.** Bei der **Weiterbehandlung** des Schnittes kann derselbe

[1]) In den Lehrbüchern etc. werden die technischen Termini in verschiedenem Sinne gebraucht, z. B. mufs der Ausdruck »einbetten« bei verschiedenen Autoren und oft bei ein und demselben Autor für alles Mögliche dienen. Da dies nun oft zu Mifsverständnissen Anlafs gibt, so stellen wir hier einige der häufigeren Termini, deren wir uns bedienen, und die wir zum allgemeinen Gebrauch vorschlagen, zusammen.

zunächst **aufgeklebt** werden, dann folgt die **Paraffinbefreiung** des Schnittes mit Xylol etc., dann die **Schnittfärbung**, wenn nicht **Stückfärbung** vorausging. (Durchgefärbt mufs sowohl der Schnitt wie das Stück werden.) Nach der Färbung wird **ausgewaschen**, eventuell **ausgezogen**. Die Färbung kann **Kernfärbung** sein, es kann dann mit weiteren Farben **nachgefärbt** werden (Plasmafärbung). Man spricht dann von **Mehrfachfärbung**. Mehrfachfärbung mit nur zwei Farben nennt man **Doppelfärbung**. Endlich erfolgt der **Einschlufs** in Canadabalsam; der Einschlufs kann auch so geschehen, dafs man erst in Glycerin **einlegt** und dann **umrandet**.

Spezieller Teil.

1. Kapitel.

Zelle.

288. Die Zelle im ganzen ist von Gewebe zu Gewebe verschieden. Es ist aber möglich, in den verschiedensten Zellen durch die gleichen Methoden ähnliche Dinge zur Anschauung zu bringen: z. B. Chromatin des Kernes, einzelne Strukturverhältnisse des Protoplasmas u. s. w.

289. Das Chromatin löst sich in starken Säuren, nicht aber in schwachen; es löst sich in Alkalien. Chromsäure-Salze affizieren das Chromatin bei längerer Einwirkung bedeutend. — Um die Mitosen zur Anschauung zu bringen, fixiere man die Stücke mit Sublimat, § 103, Pikrinsäure, § 110, Salpetersäure, § 109, und wende entweder Stückfärbung mit Hämatoxylin, § 241, oder Karmin, §§ 225 f., 231, oder Schnittfärbung mit Hämatoxylin, §§ 234, 242, Karmin, §§ 225 f., 231, Safranin, § 250, an. Als Untersuchungsobjekte wähle man wegen der bedeutenden Gröfse der Elemente von den Wirbeltieren Amphibien, namentlich Quappen von Fröschen, Kröten, Tritonen. Noch günstiger, aber nicht so leicht zu bekommen, sind Embryonen von Salamandra mac. und atra. Man studiere Mitosen auch an Pflanzenzellen, z. B. in den Spitzen junger Wurzeln der Zwiebel. (Einsetzen in ein Hyacinthenglas.) Behandlung wie tierische Gewebe.

290. Hammer (91) sagt, dafs die Mitosen beim Menschen nach dem Tode nicht ablaufen, sondern durch Chromatolyse zu Grunde gehen und dafs sich die achromatische Spindel lange erhält.

291. Die Methoden, die in dieser Beziehung am meisten geleistet haben, sind, auf lebensfrische Objekte angewandt: a) Fixierung mit Flemmingscher Lösung, § 96, mit nachfolgender Schnittfärbung mit Safranin, § 250 (Flemming); — b) die Rablsche Fixierung mit $^1/_{10}$—$^1/_8$% Platinchloridlösung, Auswaschen mit Wasser, Übertragen in Alkohol von allmählich steigender Konzentration, Färben mit Delafieldschem Hämatoxylin, § 242, Untersuchen in Methylalkohol (auch Wasser); — c) die Hermannsche Fixierung mit modif. Flemmingscher Lösung (§ 100) einige Tage bis eine Woche lang, Waschen mit fliefsendem Wasser, Übertragen in Alk. abs. auf einen Tag; aus dem Alkohol kommen die Stücke in rohen Holzessig auf 12 bis 24 Stunden, dann wird wieder 24 Stunden gewaschen und in Alkohol übertragen. Färbung der Schnitte mit Safranin, § 250, resp. mit Safranin-Gram, § 663, ist zulässig, nicht aber absolut notwendig, da man auch ohne Färbung vieles sieht. — Die Methoden b) und c) zeigen auch deutlich einige Protoplasmastrukturen und c) mitunter besonders deutlich das Centrosoma. — d) Die vom Rathschen Methoden s. § 101 und 102. — e) Endlich verweisen wir noch auf die von Rawitz (95a) vorgeschlagene Anwendung der Alizarine nach vorhergehender Chrombeize.

292. Um das Centrosoma, Spindelfäden, Lininfäden und Polstrahlen zu färben, empfiehlt Flemming folgende Methode: Fixierung etc. nach § 96: Schnitte oder dünne Lamellen werden in Safranin, § 250, 2—3 Tage gefärbt; kurzes Waschen in dest. Wasser, Übertragen in schwach mit HCl angesäuertem abs. Alkohol ($^1/_{1000}$), bis sich wenig Farbe mehr löst; kurzes Waschen mit dest. Wasser. Es werden die Schnitte nun 1—3 Stunden in eine sehr dunkle wässerige Gentianaviolettlösung übertragen, kurz mit dest. Wasser gewaschen und dann in eine konzentrierte wässerige Orangelösung gebracht, bis (wenige Minuten) die Schnitte anfangen, violett zu werden. Es wird kurz mit abs. Alkohol gewaschen, in Nelken- oder Bergamottöl übertragen und in Canadabalsam eingeschlossen. Auf das Abpassen der Zeit, wo Centralkörper und Spindeln gerade noch Farbe enthalten, kommt es an.

An Eiern von Ascaris megalocephala, die sich teilen, treten chromatische und achromatische Bestandteile der Zelle viel elementarer hervor.

Für die Darstellung der Centrosomen verweisen wir *ferner* auf die Hämatoxylin-Eisenalaun-Methode M. Heidenhains, *siehe* § 245.

Als günstigstes Objekt, um die Centrosomen ungefärbt zu sehen, nennt Solger (89b) die Pigmentzellen (in der Kopfhaut der Frontal- und Ethmoidalregion des Hechtes). Flemming'sche Lösung oder Sublimat.

293. Für Darstellung sonstiger Protoplasmastrukturen heben wir technisch hervor:

Die Stücke werden mit Pikrinsäurelösungen oder schwach jodiertem Alkohol fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt (Vorbehandlung mit saurem Eisenoxyd, kurzes Auswaschen, $^1/_2$% wässerige Hämatoxylinlösung, siehe auch § 241), und sehr dünn $^1/_2$—1 μ geschnitten. Bei günstiger Beleuchtung, starken Vergrößerungen und in schwach lichtbrechenden Medien untersucht, zeigen sich gefärbte, wabige (alveoläre, schaumige) Strukturen des Protoplasmas; an tierischen Zellen, z. B. an Ovarial-Eiern der Knochenfische, Blutzellen des Frosches, Dünndarmepithel (Bütschli, 92).

Belgische Forscher (Carnoy) gebrauchen mit Vorliebe und Erfolg entweder als Färbemittel allein, oder als Fixations- und Färbemittel Methylgrün — Eisessiglösung. Methylgrün wird in 2—3%iger Essigsäure gelöst, nach der Färbung ($^1/_2$ Stunde) wird mit 2—3%iger Essigsäure ausgewaschen, und diese durch Glycerin substituiert.

294. Für Darstellung der Zellengranula bedient sich Altmann (94) folgender Methode: Fixierung in einer Mischung, welche durch Zusammengießen gleicher Volumina einer 5%igen Lösung von Kaliumbichromat und einer 2%igen Lösung der Überosmiumsäure erhalten wird. Die dem eben getöteten Tiere entnommenen Organstückchen kommen in diese Lösung, werden 24 Stunden darin belassen, dann in fließendem Wasser mehrere Stunden gewaschen und, nachdem sie einige Zeit nacheinander in Alkohol von 75%, 90%, 100% gelegen haben, mit Hilfe des Xylols (zwischen absoluten Alkohol und Xylol wird Xylol 3 und abs. Alk. 1 Teil eingeschaltet) mit Paraffin durchtränkt und 1 bis 2 μ dick geschnitten.

Altmann klebt nach folgender Methode auf: Eine Lösung von 1 Guttapercha in 6 Chloroform (als Traumaticin in den Apotheken käuflich) wird für den Gebrauch mit dem 25fachen Volumen Chloroform verdünnt, die verdünnte Lösung über den Objektträger gegossen, abgetropft, und der Objektträger nach dem Verdunsten des Chloroforms über der Gasflamme stark erhitzt. Auf solche vorrätig gehaltene Objektträger kommen die Paraffinschnitte und werden hier mit einer Lösung von Schießbaumwolle in Aceton und Alkohol angepinselt. (2 g Schießbaumwolle in 50 ccm Aceton gelöst und hiervon 5 ccm mit 20 ccm Alkohol verdünnt.) Nach dem Anpinseln werden die Schnitte mit Fließpapier stark an den Objektträger angedrückt und nach dem Trocknen angeschmolzen. Solche Schnitte können dann ohne Gefahr mit verschiedenen Lösungs- und Färbungsmitteln behandelt werden.

So aufgeklebte Schnitte werden mit Xylol von Paraffin befreit und in Alkohol übertragen. Dann wird eine kalt gesättigte und filtrierte Lösung von Anilin in Wasser hergestellt, und in 100 ccm derselben 20 g Säurefuchsin gelöst. Von dieser Lösung bringt man eine Quantität auf den Objektträger und erwärmt denselben über freier Flamme, bis sich seine Unterfläche empfindlich heifs anfühlt und die Farbstofflösung dampft. Dann läfst man abkühlen und spült den Farbstoff mit einer Pikrinsäurelösung ab, welche durch Vermischen eines Volumens konzentrierter Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol mit 2 Volumina Wasser hergestellt ist. Dann gieſst man eine neue Portion der Pikrinsäurelösung auf den Objektträger und erwärmt denselben. Dauer etwa 30—60 Sekunden (event. das Verfahren wiederholen). Doch ist es Sache der persönlichen Erfahrung und Erprobung eines jeden Einzelnen, diese Erwärmung so konstant und sicher als möglich zu machen, um zu guten Resultaten zu kommen. Da Xylol die Osmiumschwärzung extrahiert, so empfiehlt es sich, statt Xylolcanadabalsam entweder Paraffinum liquidum nach Altmann oder abgedampften Canadabalsam zu gebrauchen (siehe Knocheneinschmelzen) (Raum). Die Granula sollen scharf gefärbt hervortreten, das übrige dagegen keinen oder nur einen graugelblichen Farbenton zeigen.

295. Eine Methode, welche die »Reaktionsfähigkeit der Gewebe« in ihrem natürlichen Zustand konserviert und daher einen durchaus »universellen Charakter« hat, und vermittelst der selbst die subtilsten Formen so vollkommen erhalten werden wie auf keine andere Weise, sieht Altmann in folgendem Vorgehen: Man läfst frische Organstückchen gefrieren und trocknet dieselben in gefrorenem Zustande bei einer Temperatur von unter —20° C. über Schwefelsäure im Vakuum vollständig aus. Das Austrocknen dauert ein paar Tage, man erhält der Sicherheit wegen die Temperatur während dieser Zeit am besten nahe an —30° C., da bei —10° bis —15° die Objekte schrumpfen. »Austrocknen unterhalb der kritischen Temperatur.« Maschinelle Einrichtungen verdienen für dieses Verfahren den Vorzug. Die im Volumen unveränderten Präparate werden mit geschmolzenem Paraffin im Vakuum direkt durchtränkt.

296. Altmanns (92) Methode der Darstellung des intergranulären Netzwerkes im Kern.

Mischung A: Molybdänsaures Ammoniak 2,5
Chromsäure 0,25
Wasser 100

(je nach den Objekten wird die Chromsäure-Menge zwischen ¼ — 1% variiert). Mit molybdänsaurem Ammoniak allein erscheinen die Kerne homogen, mit Zusatz von 0,5—1% Chromsäure grobnetzig. — In A läfst man die frisch eingelegten *Stücke* etwa 24 Stunden, dann übertrage man sie direkt in

Alkohol und nach einigen Tagen übertrage man dieselben in reines Paraffin. Färbung wie gewöhnlich, Hämatoxylin, Gentiana etc.

297. Nach Fischer (93) liefern übrigens verdünnte, mit verschiedenen Reagentien (namentlich mit Kaliumbichromat-Osmiumsäure) behandelte Eiweifslösungen Niederschläge, welche dadurch bemerkenswert sind, dafs sie sich den Farbstoffen gegenüber ebenso verhalten, wie die Altmannschen Granula. Es ist darnach zweifelhaft, ob man in den Altmannschen Granulis vitale Bildungen zu sehen hat.

Für dieses Kapitel zitieren wir aufser den im Text gegebenen Litteraturnachweisen die Arbeiten von Flemming (82, 91 a u. b, 95), Hermann (93), Metzner (94).

2. Kapitel.

Epithelien und Endothelien.

298. **Frisch** werden die Epithelien durch leichtes Abschaben von der Oberfläche mit einem scharfen Messer gewonnen. Für die Entnahme der Pflasterepithelien ist die Mundhöhle zu empfehlen. Für die Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln. Viele in der Harnblase und Kloake des Frosches stets anzutreffende Parasiten haben eine flimmernde Oberfläche.

Die Untersuchung geschieht zunächst in der physiologischen Kochsalzlösung, und man würde gut daran thun, sich über die Einwirkung der schwachen Säuren und Alkalien auf die Flimmerung zu orientieren (1 Kalilauge auf 1000 Wasser). (Alkalien wirken erregend.) In den Präparaten des Mundspeichels trifft man Speichelkörperchen an; bei Untersuchung derselben achte man auf molekuläre Bewegung.

299. Dann werden Epithelien untersucht, indem man dieselben isoliert. Dies geschieht durch Einlegen von Epithelfetzen, event. ganzer von Epithelien ausgekleideter Organe (z. B. Darm, Trachea) in Isolierungs-Flüssigkeiten. Nach verschiedener Zeit können die Zellen durch Schütteln oder Zupfen mit Nadeln isoliert (freischwimmend) werden. Untersucht kann in der Isolierungsflüssigkeit werden oder aber, indem man Glycerin zusetzt, färbt (einen Tropfen Pikrokarmin am Rande des Deckgläschens zufliefsen lassen) und umrandet.

Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört:

300. der sogenannte $^1/_3$ Alkohol von Ranvier (28 Alk. absol. und 72 Wasser). Nicht allzugrofse Fetzen eines frischen Epithels werden in wenig Flüssigkeit 12 bis 24 Stunden belassen, und es erfolgt die Isolation in der Regel schon durch blofses Schütteln oder aber durch Zupfen mit Nadeln auf einem Objektträger. Die Cilien der Flimmerepithelien werden erhalten, und die nachträgliche Färbung auf dem Objektträger ist zulässig.

Als weitere Isolationsmittel für Epithelien führen wir an:

301. Jodserum von M. Schulze (siehe § 73).

302. Osmiumsäure 1 auf 1000.

Kleine Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden und mehr belassen, mit Wasser gewaschen und im Wasser selbst oder in Glycerin zerzupft.

303. Oxalsäure 1 auf 22 Wasser. Anwendung wie die vorige.

304. Sehr schwache Chromsäurelösung $^1/_{10}$ %. Einwirkung 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchen Kampfers.

305. Sehr schwache $^1/_2$ bis 1‰ige Kalium- und Ammon.-bichrom.-Lösung. Einwirkung mindestens 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchen Kampfers.

306. Mit starken Kochsalzlösungen, bis 10%, erzielt man namentlich an cylindrischen Epithelien gute Isolationen, und es erscheinen dabei an den basalen Theilen lange, fadenförmige, zuweilen sich verzweigende Fortsätze, deren Bedeutung bis jetzt nicht genügend festgestellt ist.

307. In der jüngsten Zeit hat Soulier (91) auf bestimmte Mischungen von Rhodankalium oder -Ammonium mit der Flüssigkeit von Ripart und Petit (s. § 76), die von Objekt zu Objekt ausprobiert werden mufs, und die für Isolation der Epithelien Hervorragendes leistet, aufmerksam gemacht. Rhodankalium, resp. Ammonium allein angewandt, wirken zu intensiv isolierend und verändern die Epithelien aufserordentlich, die Flüssigkeit von Ripart und Petit dagegen fixiert, isoliert aber nicht. — Es ist dadurch die Möglichkeit gegeben, eine isolierende und gleichzeitig fixierende Flüssigkeit für bestimmte Epithelien herauszuprobieren. — Man kann aber auch andere Flüssigkeiten zu demselben Zwecke paaren, z. B. Ätz*kali in* schwachen Lösungen mit Ripart und Petit etc.

308. Bei der Beobachtung der Epithelien oder Endothelien von der Fläche frisch sieht man die Zellgrenzen entweder gar nicht oder sehr undeutlich. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sogenannten **Versilberungsmethode** (Ranvier [68 und 89]).

Dünne frische Membranen, Mesenterien, Perikardiumstücke, aufgeschnittene dünne Gefäfse, aufgeblasene Lungenalveolen u. s. w. werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit abgespült, um die anhaftenden Blutkörperchen etc. fortzuschwemmen. Sie werden alsdann in eine ca. $^1/_2$ %ige wässerige Höllensteinlösung übertragen und so lange darin belassen, bis die Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das der Fall, so werden die Stücke aus der Höllensteinlösung in viel destilliertes Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte so lange stehen gelassen, bis die Stücke anfangen, sich zu bräunen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit destilliertem Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glycerin und ähnlichem untersucht, oder aber allmählich in absoluten Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Ausspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. Xylol, Canadabalsam. An solchen Stücken erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist, die Zellgrenzen, resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, der Zellleib und die Kerne derselben gar nicht oder wenig tingiert.

Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Boraxkarmin oder Hämatoxylin, ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

309. 1844 hat C. Krause (44) an der Epidermis mit Silbernitrat Zellgrenzen dargestellt und in einer Dissertation, die unter Coccius 1854 erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, dafs nach der Ätzung des Hornhautepithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

310. Der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pincetten etc. mit Silberlösungen ist auf das sorgfältigste zu vermeiden, und man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln etc. zusammenbaut. Zwei Igelstacheln würden ohne weiteres Nadeln ersetzen, zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Holz oder Horn, in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pincette festgebunden,

eine breitere dünne Lamelle aus hartem Holz werden in diesem Falle im allgemeinen zum Ziele führen.

311. Als Lösungsmittel für Silbernitrat kann statt des Wassers eine 1/2 %ige Osmiumsäure oder eine 2 bis 3 %ige Salpetersäure genommen werden. Man lasse die Flüssigkeit etwa 1/4 Stunde einwirken, wasche mit destilliertem Wasser längere Zeit, etwa 1/2 Stunde, ab, übertrage in Spiritus von 70 %, färbe eventuell nach (Hämatoxylin oder Karmin) und überführe in Canadabalsam nach bekannten Regeln.

312. Indulin in wässeriger Lösung wurde empfohlen und angewandt (Calberla, 77) an fixierten Präparaten zur Darstellung der Zellgrenzen, die, ähnlich wie bei Anwendung von Silbernitrat, zuweilen gefärbt zum Vorschein kommen.

313. Behandelt man die überlebenden Gewebe: Mesenterien, Sehnen, kleinere Nerven u. s. w., mit Methylenblau-Kochsalzlösung (s. § 491 ff.), so kann man Zellgrenzen von Endothelien resp. Sehnenzellen, Ranviersche Kreuze nebenbei zur Darstellung bringen.

314. Um Intercellularbrücken darzustellen, empfiehlt Kolossow (92) folgende vorzügliche Methode: Feine Membranen, kleinste Gewebsstücke (auch vorher fixierte Stücke) kommen auf kurze Zeit (etwa 1/4 Stunde) in eine 1/2—1 %ige Osmiumsäure oder in

Alkohol	50	ccm
Wasser	50	»
Acid. nitr. conc.	2	»
Osmiumsäure	1—2	g

und dann in eine 10 %ige wässerige Tanninlösung oder den sog. Entwickler:

Wasser	450
85 %iger Alkohol	100
Glycerin	50
Tannin puriss.	30
Pyrogallussäure	30.

(Zur Darstellung des Entwicklers werden 30 g Tannin in 100 Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst sind, und darauf die übrige Quantität Wasser, den Alkohol und das Glycerin.) Im Entwickler verbleiben die Stücke einige Minuten, werden dann 5 Minuten in einer schwachen Osmiumsäure abgespült, Waschen mit destilliertem Wasser, Alkohol etc.

3. Kapitel.

Blut und Lymphe.

315. Die roten Blutkörperchen können **direkt** untersucht werden. Man gewinnt einen Blutstropfen, wenn man z. B. sich selbst in die Fingerbeere einsticht; bei passendem Druck pflegt der Tropfen hervorzutreten und kann ohne weiteres auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden.

Will man die Geldrollenanordnung der Blutkörperchen erhalten, so mufs man einen gröfseren Tropfen entnehmen.

Hat man nicht genügend rasch operiert, so findet man bereits alle Blutkörperchen hochgradig verändert infolge der Verdunstung u. s. w. Bessere Resultate bekommt man, wenn man über die Stichwunde zwei an einander gedrückte Deckgläser hält und den Tropfen nun auspreſst. Er gerät ohne weiteres in den kapillaren Raum und verbreitet sich dort in dünner Schicht. Statt zweier Deckgläser kann man natürlich auch Objektträger und Deckglas in einer passenden Weise kombinieren.

Ist das Präparat fertig, so sorge man dafür, dafs keine weitere Luft zu dem untersuchten Tropfen zutrete, indem man das Deckgläschen z. B. mit Öl umrandet.

316. Hat man genügend unveränderte rote Blutscheiben studiert, so untersuche man zunächst einen Blutstropfen an einem ohne besondere Vorsichtsmafsregeln angefertigten Präparate. Die Blutkörperchen werden zackig, »stechapfel-«, »morgensternförmig«. Man setze solchen Präparaten Wasser zu; man sieht alsbald, dafs die Blutkörperchen, wo sie vom Wasserstrom getroffen werden, sich zunächst aufblähen. Dann löst sich im Wasser der Blutfarbestoff (Hämoglobin), die Blutkörperchen werden mehr und mehr blafs und entziehen sich dem Auge des Beobachters. (Schatten.)

317. Man setze einem andern Präparate verdünnte Essigsäure zu; die roten Blutkörperchen blähen sich im Momente der Berührung mit der Essigsäure auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbestoff abzugeben.

318. Man vergesse nicht, auch Galle desselben Tieres zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann; sie blähen sich auf und explodieren förmlich.

319. Für Untersuchung der Blutplättchen braucht man die **Afanassiewsche** (84) **Flüssigkeit**: 0,6 des trockenen Peptons gelöst in 100 physiologischer Kochsalzlösung. Zu dieser Flüssigkeit wird im Verhältnis von 1 : 10000, ja sogar 1 : 20000 Methylviolett hinzugesetzt. Die Mischung wird gekocht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf der Haut, etwa der Fingerbeere, die vorher gut gereinigt worden ist, deponiert, unter derselben ein Nadelstich gemacht, so dafs das Blut in die Flüssigkeit direkt eindringt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. Diese Flüssigkeit konserviert auch die roten und die weifsen Blutkörperchen.

Da diese Flüssigkeit leicht fault, so müssen die Gefäfse, in welchen sie aufbewahrt wird, vorher sterilisiert, die gekochte Flüssigkeit filtriert und eine unbedeutende Menge von Sublimat oder Karbolsäure zugesetzt werden.

Verwendet man in analoger Weise 1% Osmiumsäure (ohne Farbenzusatz), so werden die Blutplättchen ebenfalls gut erhalten.

320. Um **rote Blutkörperchen in Schnitten** (in den Gefäfsen, fixierten Objekten entnommen) zu erkennen, gibt es eine Reihe von Färbemethoden.

321. Bei der Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Eosin (siehe § 261) nehmen die roten Blutkörperchen eine eigentümlich leuchtend rote Farbe an, welche dieselben sofort als solche erkennen läfst.

322. Wiscozky (77) hat das Eosin als Reagens auf Hämoglobin empfohlen in folgender Zusammensetzung:

Eosin	1,
Alaun	1,
Alkohol	200.

Noch besser gelingt diese Reaktion, wenn man die Blutkörperchen vorher ein paar Minuten mit einer 1%igen Osmiumsäure behandelt (Thanhoffer, 77).

323. In Chromsäurepräparaten werden die roten Blutkörperchen grün, bei Anwendung der Färbung von Norris und Shakespeare (siehe § 258).

324. Für Sublimatpräparate empfiehlt R. Heidenhain (88) die Ehrlich-Biondische Methode (siehe § 273), mittelst welcher sich Blut orange färbt. — Sublimat-Kochsalz fixiert die roten Blutkörperchen gut und löst das Hämoglobin nicht. H. F. Müller.

325. Zum Nachweis der **weifsen Blutkörperchen** im Blut der Säugetiere setzt man einem Blutstropfen unter dem *Objektträger* einen Tropfen Essigsäure zu. Nachdem die

roten Blutkörperchen undeutlich geworden sind (siehe § 316), treten die Kerne der weifsen deutlich hervor.

326. Amöboide Bewegungen der weifsen Blutkörperchen der Säugetiere kann man im Präparate sehen, wenn man dieselben einer Temperatur aussetzt, die etwa der Körpertemperatur entspricht; dies geschieht mittels des Wärmetisches. Dabei mufs man rasch arbeiten. Bei gewöhnlicher Temperatur kann man amöboide Bewegungen der weifsen Blutkörperchen von Amphibien (Frosch, Salamander) beobachten. Noch ausgiebigere Bewegungen sieht man an der Lymphe des gemeinen Krebses.

327. Um mikroskopische Präparate einer andauernden, bestimmten höheren Temperatur aussetzen zu können, wurden eine Reihe von Apparaten, sogenannte erwärmbare Objekttische, konstruiert. Ein einfacher und wohlgeeigneter ist der von M. Schultze (65) angegebene. Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz in der Nähe der letzteren ist ein Thermometer so befestigt, dafs man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können. Durch Leitung wird so dem Tisch Wärme zur Erzeugung der gewünschten höheren Temperatur zugeführt.

328. Einen indirekten Beweis der amöboiden Bewegung der Leukocythen erhält man, wenn man ein kleines Stückchen Holundermark in den Lymphsack (am Rücken unter der Haut) eines Frosches bringt und die Wunde vernäht. Nach 24 Stunden tötet man das Tier, fixiert das Holunderstückchen, durchtränkt es mit Paraffin, schneidet und färbt es. Man findet dann dasselbe durchzogen von Leukocythen.

329. Um die roten oder weifsen Blutkörperchen dauernd aufzuheben, empfiehlt es sich, eine sehr dünne, auf dem Objektträger ausgebreitete Blutschicht mit Osmiumsäuredämpfen zu räuchern (siehe § 92).

330. Die Ausbreitung des Bluttropfens auf dem Objektträger resp. Deckgläschen geschieht entweder, indem man einen frisch entnommenen Tropfen Blut sich zwischen zwei aufeinandergelegte Deckgläschen durch Kapillarität einsaugen läfst und dann die Gläschen auseinanderzieht, oder indem man einen Tropfen Blut direkt auf dem Objektträger ausstreicht. Bei einiger Übung erzielt man gute Resultate,

wenn man bei Untersuchung von Tierblut z. B. die Herzspitze mit der Pincette fafst, abschneidet und nun mit der Herzspitze selbst das Blut auf Objektträger in dünner Lage ausstreicht.

331. Eine scheinbar rohe Methode, die aber mitunter zu guten Resultaten führt, ist die folgende: Eine möglichst dünne Schicht (s. § 330) frischen Blutes wird sehr rasch über einer Spirituslampe getrocknet, mit einem Deckglase bedeckt, das letztere umrandet (siehe § 205), und so als Präparat aufgehoben. **Trockenpräparate.**

332. So behandelte Präparate kann man noch nachträglich färben, indem die Blutkörperchen durch das Antrocknen genügend auf dem Objektträger angeklebt sind, um die erforderlichen Operationen zu gestatten.

Sehr dankbar erweist sich hier die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und nachträglich (oder zuvor) mit Eosin.

333. Eine sehr gute Methode zur Herstellung von **Blutpräparaten** besteht darin, dafs man Blut auf dem Objektträger möglichst dünn ausbreitet (s. § 330) und dann rasch den Objektträger auf 10 Minuten in eine **konzentrierte wässerige Sublimatlösung** (siehe § 103) steckt. Dann wird mit Wasser, welches mehrmals gewechselt wird, abgewaschen. Es kann aus dem Wasser direkt in die Farbe übertragen oder Alkohol eingeschaltet werden. Diese Methode fixiert Blut- und Lymphkörperchen gut und gestattet, indem sie gleichfalls anklebt, eine Reihe von Doppelfärbungen (z. B. Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Eosin resp. statt Eosin Orange u. a. m.).

334. **Ehrlich** (91) klassifiziert die Anilinfarbstoffe von anderen Gesichtspunkten, wie die Chemiker. Er nennt saure Farbstoffe jene Verbindungen, bei denen, wie in pikrinsaurem Ammon, eine Säure das färbende Prinzip darstellt. Eosin, Aurantia, Indulin, Nigrosin.

Die basischen Farbestoffe sind, wie das essigsaure Rosanilin, aus einer Farbbase und einer indifferenten Säure entstanden gedacht. Dazu gehören: Fuchsin, Bismarckbraun, Safranin, Gentiana, Dahlia, Methylviolett.

Die neutralen schliefslich denke man sich, wie das pikrinsaure Rosanilin, durch Zusammentritt einer Farbbase und einer Farbsäure entstehen. Methylenblau, Methylgrün.

335. Nach Ehrlich sollen die Blutpräparate vor der Färbung einer Temperatur von 120° unterworfen werden, eine Temperatur, die man nicht ohne spezielle Vorrichtungen erlangen kann. Diese Vorbehandlung soll aber nach Nikiforoff *vollkommen* das Eintauchen in eine Mischung von absolutem

Alkohol und Äther zu gleichen Teilen auf 1—2 Stunden ersetzen. (Alkohol soll ganz wasserfrei sein, was man mit geglühtem Kupfervitriol [siehe § 122] erzielen kann.) Nun werden die Präparate an der Luft getrocknet, und es kann weiter nach Ehrlich gefärbt werden, und zwar mit demselben Erfolge.

336. Ehrlich hat Zellen mit granuliertem Zellleib nach ihrem Färbungsvermögen mit Anilinfarben in verschiedene Gruppen eingeteilt, die er α—ε benennt. Dieselben sind folgende:

337. 1. Eosinophile oder acidophile Zellen mit α-Granulationen kommen vor in Blut, Lymphe und Geweben. Diese charakterisieren sich durch ihre Verwandtschaft zur grofsen Reihe der sauren Teerfarbstoffe, d. h. solcher, in denen die Säure das färbende Prinzip darstellt.

In erster Linie gehört hierher Eosin.

Man färbt entweder in in Glycerin gesättigtem Eosin (resp. Indulin, oder gesättigter wässeriger Orangelösung oder Eosin-Glycerin-Indulin) 12 Stunden, Spülen mit Wasser, Trocknen, Canadabalsam. — Granula purpurrot. — Oder: zu Ehrlichs Hämatoxylin (siehe § 243) kommt 1 g (0,5 g) Eosin hinzu. Die Flüssigkeit läfst man vor dem Gebrauche 3 Wochen im Lichte stehen; sie färbt in einigen Stunden, Spülen in Wasser. — Kerne blau. Granula leuchtend rot.

338. 2. Zellen mit β-Granulationen (amphophile, indulinophile) tingieren sich in sauren und basischen Farben. Sie kommen vor im Blut von Meerschweinchen, Kaninchen und Vögeln. — Darstellung: Gesättigte Lösung von Eosin, Naphthylamingelb, Indulin in Glycerin; färbt auf trockene Präparate angewandt, Hämoglobin gelb, Kerne schwarz, α-Granulationen rot, β-Granulationen schwarz.

339. 3. Zellen mit γ-Granulationen oder »Mastzellen« färben sich mit allen basischen Farbstoffen, kommen vor im Bindegewebe (Mastzellen) und im Blut. Ehrlich färbt sie mit Dahlia in gesättigter Lösung in: Acid. acet. glac.: 12,5, Alkohol absol. 50, Aq. dest. 100 an getrockneten oder in Alkohol mindestens 24 Stunden fixierten Stücken entnommenen Schnitten oder nach folgender Methode:

Alaun-Karmin-Dahlia (Westphal) wird auf Schnitte angewandt, welche mindestens eine Woche lang in Alkohol fixiert worden sind:

Karmin	2 g,
destill. Wasser	200 ccm,
Alaun	2 g.

Das Ganze wird 1/4 Stunde lang gekocht, filtriert (Partsch-Grenacherscher Karmin) und 1 ccm Karbolsäure hinzugesetzt. Zu dieser Karminlösung werden 200 ccm gesättigte Dahlia-Lösung in absolutem Alkohol, 100 ccm Glycerin und 20 ccm

Eisessig hinzugefügt. Das Ganze wird umgerührt und einige Zeit stehen gelassen. In dieser Flüssigkeit beläfst man die in Alkohol fixierten Stücken entnommenen Schnitte 24 Stunden und länger und überträgt sie dann auf ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol. Die Schnitte entfärben sich, nur die Kerne behalten etwas von der rötlichen Farbe, es bleiben aber intensiv blau die Granulationen der Mastzellen (auch Knorpelgrundsubstanz). Material: Interlobuläres Bindegewebe der Leber, Darm etc.

340. 4. Zellen mit δ-Granulationen Ehrlichs; es sind sehr feine Granula, die in mononukleären Leukocyten des menschlichen Blutes vorkommen. Sie werden an erhitzten und unerhitzten Präparaten mit wässeriger konz. Methylenblaulösung dargestellt; sie sind noch wenig studiert.

341. 5. Neutrophile Granulationen (in mehrkernigen Leukocyten des menschlichen Blutes, auch Eiters) an getrockneten Präparaten. Darstellung des neutralen Farbstoffs nach Ehrlich: 5 Volumina einer gesättigten Säurefuchsinlösung in Wasser, setze unter Umrühren 1 Volumen einer starken wässerigen Methylenblaulösung und 5 Volumina Wasser zu, lasse einige Tage stehen und filtriere. Man lasse die Farbe 2—5 Minuten einwirken, spüle kurz mit Wasser ab, mit Fliefspapier absaugen, trocknen, Canadabalsam. Rote Blutkörperchen werden dann rot, ε-Granulationen violett, α leuchtend purpurn.

Diese Zellen stammen als mononukleäre aus Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark und gehen im Blut in polynukleäre über. Färbt man mit der Biondischen Lösung (siehe § 273) wenige Minuten, so wird Hämoglobin gelb, α-Granulationen rot, ε-Granulationen grün.

342. R. Heidenhain (88) empfiehlt die von ihm modifizierte Biondi-Ehrlichsche Färbung (§ 273) zur Unterscheidung folgender Arten von Wanderzellen in Schnitten:

1. Zellen mit einem sehr kleinen, fast farblosen Protoplasmaleibe,
2. mit gröfserem, hell-rosa gefärbtem Protoplasma,
3. Körnchenzellen,
4. Zellen mit intensiv dunkel-blaugrünem Kern und intensiv dunkelrotem Protoplasma (nach der Annahme Heidenhains untergehende Formen).

343. Um die sogenannten **Hämoglobin-Krystalle** (vergleiche darüber C. B. Reichert [49 b]) herzustellen, verfahre man folgendermafsen: man entnehme einem frisch getöteten Tiere, Pferde, Meerschweinchen, etwas Blut und defibriniere es durch Schlagen oder durch Schütteln mit Quecksilber. Das so defibrinierte Blut wird mit Schwefeläther, welchen man tropfenweise zusetzt, längere Zeit geschüttelt, bis die *bekannte Lackfarbe* auftritt. Dieses lackfarben gewordene

Blut darf unter dem Mikroskop keine intakten roten Blutkörperchen mehr zeigen. Der rote Blutfarbestoff ist gelöst. So defibriniertes und lackfarben gewordenes Blut wird in einem flachen Gefäfs auf 12 bis 24 Stunden auf Eis gestellt. Wenn man nun einen Tropfen auf den Objektträger bringt, $^1/_2$ Stunde liegen läfst (man kann die Prozedur dadurch abkürzen, dafs man den Objektträger gelinde erwärmt), so fängt der Tropfen an zu trocknen, und zwar zunächst am Rande, wo sich ein dunkler, fester Ring bildet. Bedeckt man den Tropfen mit einem nicht allzugrofsen Deckglase, so fangen zunächst in der unmittelbaren Nähe des Ringes und an demselben zahlreiche Krystalle sich zu bilden an, deren Entstehen man unter dem Mikroskop schon mit schwacher Vergröfserung direkt beobachten kann.

Das Anfertigen eines Dauerpräparates ist nicht lohnend wegen der Kompliziertheit des hierbei einzuschlagenden Verfahrens.

Man kann diese Krystalle in dickem Canadabalsam sich bilden lassen. Solche Krystalle halten sich monatelang.

344. Schliefst man defibriniertes Blut hermetisch in eine Glasröhre, läfst sie in einem Thermostat (40° C.) zwei bis drei Tage liegen, zerbricht das Gläschen und läfst das so behandelte Blut in eine flache Schale ausfliefsen, so bilden sich bald mit bloſsem Auge sichtbare Hämoglobinkrystalle. Gscheidlen (76).

345. Man nehme einen Tropfen Blut und verreibe denselben mit einem ebenso grofsen Tropfen einer Kochsalzlösung (auf die Konzentration kommt es nicht an), etwa mit einer Nadelspitze sorgfältig. Dann erwärme man vorsichtig, bis ein trockener rostbrauner Rückstand verbleibt, bedecke diesen mit einem Deckglase, lasse Eisessig zufliefsen, und bringe durch Erwärmen den Eisessig ein paarmal zum Kochen, wobei darauf zu achten ist, dafs das Deckgläschen nicht abspringt. (Die Prozedur des Aufkochens wird wiederholt, indem man die verdunstete Flüssigkeit [Eisessig] durch eine frische ersetzt.) Ist der Eisessig verdunstet, so kann man direkt Canadabalsam unter das Deckgläschen zufliefsen lassen. Es haben sich zahllose braunschwarze Krystalle gebildet, welche in Canadabalsam dauernd aufgehoben werden können. Es sind die **Teichmannschen** (53) **Häminkrystalle** (Hämin = salzsaures Hämatin).

Diese Krystalle sind fast unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Ammoniak, Eisessig, verdünnter Schwefel- und Salpetersäure, sie lösen sich in Kalilauge.

Als Verunreinigung kommen amorphe Häminmassen und Kochsalzkrystalle in solchen Präparaten vor.

346. Man kann gelegentlich noch ein Derivat des Blutfarbestoffes in apoplektischen Herden, in den gelben Körpern der Eierstöcke u. s. w. antreffen. Es sind rotgelbe Massen, die aus fuchsroten, rhombischen, eisenfreien **Hämatoidinkrystallen** bestehen (Virchow, 47).

Man kann sie in Canadabalsam aufbewahren.

347. Um Fibrin auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der andern Seite mit Fliefspapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, setzt man Jod-Jodkalium hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und Netze intensiv gelb bis braun färben

348. Fibrinfärbung (Neelsen, Grundrifs der path.-hist. Technik). Methode von Weigert. Härtung am besten in Alkohol. Die Schnitte kommen auf mindestens 10 Minuten in conz. Anilinwasser-Gentianaviolettlösung, dann werden sie flüchtig in 0,6% Kochsalzlösung abgespült und in einem Schälchen (oder bei empfindlichen Schnitten besser auf dem Objektträger) mindestens 10 Minuten lang mit Jodjodkalilösung (1 : 2 : 300) behandelt, dann auf dem Objektträger ausgebreitet, durch Abtupfen mit Fliefspapier möglichst getrocknet und so lange mit mehrfach gewechseltem Anilinöl (2 Teile auf 1 Teil Xylol) behandelt, bis sie durchsichtig geworden sind und die Färbung distinkt erscheint. Das Anilinöl wird durch Xylol sorgfältig entfernt, dann wird in Balsam eingeschlossen.

349. Man kann den **Blutkreislauf** an zahlreichen Objekten studieren. Die bequemsten sind die im Sommer so zahlreich zu habenden Kaulquappen der Frösche und Kröten (auch Tritonenlarven). Der dicke Körper und der Kopf solcher Quappen wird in mit Wasser getränktes Fliefspapier eingewickelt, und das Tier so auf den Objektträger gelegt. Die Quappe bewegt sich zunächst lebhaft, fängt aber bald an asphyktisch zu werden und beruhigt sich. In dünnen Membranen, z. B. auslaufenden Rändern und der Spitze des Schwanzes, kann man schon mit mittelstarker Vergröfserung den Blutkreislauf beobachten. Beim Frosch können zahlreiche Stellen für die Beobachtung des Blutkreislaufes zugänglich gemacht werden.

350. Um Frösche unbeweglich zu machen, pflegt man sie mit Curare zu vergiften. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der willkürlichen quergestreiften *Muskulatur*, nicht aber auf die des Herzens und der glatten

Muskeln. Auch die sensiblen Bahnen sind frei. Wenn man einem Frosch eine geeignete Dose in den Lymphsack einspritzt, so wird er nach einiger Zeit bewegungslos, die Herzbewegungen aber, resp. der Blutkreislauf dauern fort.

Da man bis jetzt nur mit dem Extrakt Curare und nicht mit einer rein dargestellten chemischen Substanz arbeiten kann, so ist eine genaue Dosierung eine Unmöglichkeit. Von der sogen. 1%igen wässerigen Lösung wende man etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ g für einen Frosch mittlerer Gröfse an. Dasselbe wird in den Rückenlymphsack injiziert. Tritt der erwartete Erfolg nach einer Stunde nicht ein, so wiederhole man die Einspritzung Eine zu starke Wirkung bei den angegebenen Dosen, die den Stillstand des Herzens herbeiruft, haben wir bisher nicht beobachtet.

351. An einem so curarisierten Frosch kann man den Blutkreislauf zunächst an den durchsichtigen Schwimmmembranen ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen auseinander und befestigt sie vermittelst zweier sogen. Insekten- (Karlsbader-) Nadeln über eine in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so grofs gewählt, dafs der Frosch auch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte.

Eine zweite Stelle des Frosches, an der man den Blutkreislauf in den Papillen, den Muskeln u. s. w. beobachten kann, ist die Zunge. Diese stellt eine fleischige Platte dar, die vorn am Unterkieferwinkel befestigt ist. Man kann sie bequem aus dem Munde herausziehen und sowohl von der dorsalen wie ventralen Seite beobachten. Durch passendes Dehnen kann man die Platte sehr dünn machen und über ein Loch in einer Korkplatte mit Nadeln spannen

Eine dritte Stelle, die aber einen kleinen operativen Eingriff erfordert, ist das Mesenterium des Frosches. In der Axillarlinie der rechten Seite wird ein 1 cm langer Hautschnitt gemacht (man verletze dabei keine Gefäfse, was um so leichter ist, als diese durch die dünne Haut durchschimmern), und zertrenne nun die darunter liegende Muskelschicht durch einen ebenso langen Schnitt. Durch eine in die Öffnung eingeführte Pincette zieht man die Dünndarmschlinge heraus, spannt sie über eine Öffnung im Kork mit Nadeln, die durch die Darmröhre gestochen werden, und das Präparat ist fertig.

Eine vierte Stelle ist die Lunge des Frosches. Man kann auch hier ohne besondere Hilfsmittel zum Ziele kommen. Man wähle Frösche, bei denen die Lungen mit Luft gefüllt sind, wovon man sich durch das Aussehen des Frosches (besonders dick) überzeugen kann. Ist das nicht der Fall, so kann man Luft nachträglich durch eine in den Kehlkopf eingebrachte Kanüle einblasen. Man mache im oberen Teile der

Axillarlinie einen Hautschnitt, den man später allmählich etwas erweitern kann. (Man operiere sehr vorsichtig, denn hier liegt eine grofse, geschlängelt verlaufende Vene). Man sieht die vorliegende Muskelschicht, die, bei aufgeblasener Lunge, so dünn ist, dafs man durch dieselbe die grofsen Lungenalveolen sieht, und mache einen $^1/_2$ cm breiten Schnitt schief, resp. quer durch die Muskelfasern, wobei es zu gar keinem Blutverlust zu kommen braucht. Die gespannte Lunge schiebt sich hernienartig vor, und man bringt sie ganz mit etwas Nachhelfen durch die gemachte Öffnung heraus. Dieser Lungensack kann entweder in einer speziell dazu gebauten sogenannten Holmgrenschen (74) Kammer untersucht werden, oder, wenn eine solche nicht zur Verfügung steht, kann man den Sack mit glühender Nadel, um Blutung zu vermeiden, durchstechen (um die Luft entweichen zu lassen), über eine Öffnung vorsichtig spannen und mit glühend gemachten Nadeln befestigen. Um die Teile vor Verdunstung während der Beobachtung zu schützen, befeuchte man mit einer $^1/_2$%igen Kochsalzlösung und bedecke sie mit einem Deckglase.

Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die Harnblase (Hällstén, 86), an vielen Stellen quergestreifte Muskeln u. s w. dazu verwenden. Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äufsere Kiemen von Tritonen und namentlich die so langen und üppigen äufseren Kiemen der Salamander können gelegentlich, wenn gerade das Material hierzu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen, siehe § 641) können zu demselben Zwecke gebraucht werden.

Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Randstromes, auf das Pulsieren in den Arterien u. s. w. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren. An den Bifurkationsstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (zwei- bis dreifache ihrer ursprünglichen Länge) gedehnt. Wird ein Blutkörperchen wieder frei, so nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an (Elastizität.)

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen u. s. w. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefafst werden, und man sieht u a. das Auswandern der weifsen Blutkörperchen durch die Gefäfswände.

352. Der Blutkörperchen-Zählapparat von Thoma (Abbe, 78), zu beziehen durch C. Zeifs in Jena, besteht aus einer gläsernen Kapillarröhre, welche in ihrem oberen Drittel mit einer Ausbuchtung versehen ist, in der eine kleine Glaskugel liegt. Das vordere Ende des Röhrchens ist mit einer *Teilung* versehen, und zwar von 0·1, 0·5, 1, bis zur Marke 101.

Weiter ist dem Apparate eine von Abbe und Zeifs konstruierte Zählkammer beigegeben. Dieselbe ist auf einem Objektträger aufgekittet, genau 0·1 mm tief. Der Boden derselben ist in mikroskopische Quadrate geteilt. Der Raum über jedem Quadrat beträgt $^1/_{4000}$ mm. Je 16 solcher Quadrate sind durch besonders starke Linien markiert. Ausführung der Bestimmung: es wird Blut in die Kapillare bis zur Marke 0,5 oder 1 eingesaugt Dann wischt man die Spitze des Kapillarröhrchens ab und saugt in die Kapillare 3% Kochsalzlösung bis zur Marke 101 ein. Dann wird die Flüssigkeit gut durchgemischt und die in der Kapillare befindliche Flüssigkeitssäule durch Lufteinblasen entfernt (die Kapillare wird nach dem Gebrauche mit Wasser, dann mit Alkohol, dann mit Äther gereinigt). Mit dem Blutkochsalzgemenge füllt man die Glaskammer des Objektträgers, legt das Deckglas darauf und untersucht, nachdem man das Präparat einige Minuten stehen liefs. Man zählt immer 16 Quadrate durch und zieht aus den erhaltenen Zahlen das Mittel. Die Berechnung der Zählungen geschieht folgendermafsen. War das Blut bis zur Marke 0·5 aufgesogen, so ist die Verdünnung 1 : 200; war Blut bis zur Marke 1 in der Kapillare, so ist die Mischung 1 : 100. Multipliziert man die in den gezählten Quadraten gefundene Anzahl von Blutzellen mit 4000 und je nach der Verdünnung noch mit 100 oder 200 und dividiert durch die Zahl der gezählten Quadrate, so erhält man die Anzahl der Blutzellen in 1 cmm Blut. Zieht man eine mit etwas Gentianaviolett gefärbte 3%ige Kochsalzlösung in Anwendung, so ist es leichter, die auf diese Weise blau gefärbten Leukocyten von den meist blafs-roten Blutzellen zu unterscheiden, also auch zu zählen.

Weitere Literatur für Kap. 3 siehe: Ehrlich (91) und H. F. Müller (92).

4. Kapitel.

Bindegewebe und Fett.

353. Man fange mit **parallelfaserigem Bindegewebe** an, am leichtesten findet man bequeme Objekte in den Sehnen des Schwanzes einer Maus oder Ratte. Wenn man ein paar Endwirbel des Schwanzes mit den Nägeln samt der Haut abzwickt und die Wirbel durch Ziehen entfernt, so folgen einige dünne, glänzende, lange Fäden nach, die Sehnen.

354. Ein Stückchen solcher Sehne wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der Methode der Halbeintrocknung (Ranvier, 89) auf dem Objektträger gefasert, d. h. es wird mit möglichst wenig Flüssigkeit gezupft, wobei man jedoch sorgt, dafs das Objekt während des Faserns nicht eintrockne, was man am besten dadurch

bewerkstelligt, dafs man während des Faserns den Objektträger anhaucht.

355. In Wasser (Rollett [59 und 71] empfiehlt Maceration mit Kalk- oder Barytwasser) untersucht, sieht man gröfsere oder kleinere Komplexe von Sehnenfibrillen und unter Umständen die Fibrillen selbst.

356. Solchen gefaserten Präparaten setze man etwas von einer z. B. 1%igen Essigsäurelösung zu; die Fasern, resp. die Fibrillen quellen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, dafs sie kaum mehr zu sehen sind. Deutlich werden dann die Kerne der Sehnenkörperchen.

357. Kalilauge, namentlich in der Wärme, bringt diese Sehnenfasern und Fibrillen in Lösung.

358. Grobe Fasern des **elastischen** Gewebes verschafft man sich vom Ligamentum nuchae z. B. eines Ochsen. Das Fasern geht hier bei weitem nicht so leicht von statten; die isolierten Fasern krümmen sich eigentümlich (Bischofstabform).

359. Die Reagentien, Essigsäure und Kalilauge, wirken auf solche Fasern, in der eben angegebenen Weise angewandt, kaum; elastische Fasern sind sehr resistent, namentlich der Kalilauge gegenüber. Diese letztere Eigenschaft kann man mit Vorteil benützen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man verfahre also: Eine dünne Lamelle, z. B. einer frischen Lunge entnommen, wird mit Kalilauge behandelt, nach einiger Zeit — ein paar Stunden — fangen Bindegewebe, Blut u. s. w. an, sich zu lösen, und es bleiben die feinsten Fäserchen, welche die Alveolen umspinnen, übrig.

360. Das **areoläre** Gewebe wird am besten dem grofsen Netze, z. B. eines Kaninchens, entnommen. Es empfiehlt sich, kleinere Stücke des Netzes zu versilbern (siehe § 308) und alsdann mit Karmin (Pikrokarmin) zu färben. Dabei sieht man, wie die Endothelzellen dicke Maschen bildende Bindegewebsbündel bekleiden.

361. Um die Elemente der **Cutis** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem getöteten Hunde z. B. wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Es bildet sich dann eine kleine Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit einer krummen Schere ent-

nommenes Fetzchen auf dem Objektträger sorgfältigst unter der Lupe zerfasert, eventuell nach den Regeln von § 255 gefärbt. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gut fixierte Bindegewebszellen eventuell Fettzellen. An den Bindegewebsfasern sieht man oft spiralig verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten, wie die Bindegewebsfibrillen.

362. Ewald und Kühne (74) unterwerfen die folgenden Gewebe der Trypsinverdauung, z. B. mit einem schwach alkalischen Glycerinpankreasextrakt bei der Temperatur von 35° C.

1. Sehnen zerfallen in einzelne Fascikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.

2. Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.

3. Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt.

4. Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.

5. Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.

6. Elastisches Gewebe wird gelöst.

7. Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.

8. Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.

9. Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.

10. Von den Epithelien der Schleimhäute bleiben nur die Kerne zurück.

11. Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighii heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

Das Trypsin ist also ein Mittel, um aus jedem tierischen Gewebe kollagene Fibrillen und Netze, Hornsubstanz und Kerne zu isolieren.

363. Neueren Untersuchungen von F. Mall (91) verdanken wir zahlreiche Angaben über das Verhalten des Bindegewebes gegen Reagentien und greifen davon folgendes heraus:

Die elastischen Fasern bleiben in Essigsäure (auch beim Kochen in 20%iger) unverändert, sie werden nur brüchig,

in konzentrierter Salzsäure gekocht, zerfällt die elastische Faser sehr rasch; in 10%iger bleibt sie bei gewöhnlicher Temperatur unverändert, in 50%iger löst sie sich in 7 Tagen, in konzentrierter schon am zweiten Tage; zuerst löst sich das Innere der Faser, dann die »Fasermembran«. Zur Darstellung der letzteren kocht man die elastischen Fasern ein paar Mal in konzentrierter Salzsäure auf und gießt das Ganze in kaltes Wasser aus. Manchmal sieht man an den Membranen eine longitudinale Strichelung, welche auf einen fibrillären Bau hindeutet. Konzentrierte Kalilauge zerstört die Faser in wenigen Tagen; schwache Lösungen nur sehr langsam; eine 1%ige braucht dazu Monate, eine 2%ige einen Monat, eine 5%ige drei Tage, 10%ige einen Tag, 20—40%ige Stunden. Eine schwache Kalilauge löst, auch kochend angewandt, die elastischen Fasern nicht auf; sie werden darin auch nicht brüchig. In 5- oder 10%iger Kalilauge gekocht, isolieren sich die »Fasermembranen«, ebenso in 20%iger kalter Lösung in 1—2 Tagen. Durch Pepsin zerfällt der Inhalt der Faser, die »Membranen« bleiben übrig.

Trypsin löst die elastischen Fasern rasch auf, nicht aber das Sehnen- und das retikulierte Gewebe, welch letztere tagelang darin unverändert bleiben. Die Fäulnis zerstört das Lig. nuchae in wenigen Tagen; zuerst zerfällt das Innere der Faser, dann die »Fasermembranen«.

Um den Faserinhalt und die »Fasermembranen« zu demonstrieren, empfiehlt sich eine Färbung mit Magenta-Rot (ein Körnchen Magenta-Rot auf 50 g Glycerin + 50 g Wasser) Der Inhalt färbt sich rot, die Faserscheide bleibt farblos.

Wird eine Sehne gekocht, so wird sie kürzer. Fixiert man die Sehne vor dem Kochen, so verkürzt sie sich nicht. Das adenoide Gewebe schrumpft beim Kochen, quillt nach kurzer Zeit und löst sich später auf. Sehnengewebe und adenoides Gewebe schrumpfen schon bei 72° C. Behandelt man sie aber eine kurze Zeit mit $^1/_2$%iger Osmiumsäure, so tritt die Schrumpfung erst bei 95° C. ein. Sind das Retikulum oder die Sehne durch Erwärmung geschrumpft, so lassen sie sich sehr leicht mit Pankreatin (Trypsin) verdauen und werden durch Fäulnis sehr leicht zerstört.

In konzentrierter und in einer Essigsäure von unter $^1/_{20}$% quellen die Sehnenfasern ebenfalls nicht. In Säuren zwischen $^1/_2$ und 25% quellen sie hingegen auf; in 25%iger werden sie nach 24 Stunden gelöst. In Salzsäure von 0,01% bis 6% quellen die Sehnenfasern auf. In einer 6- bis 25% Lösung bleiben sie eine Zeit lang ganz unverändert und erst in konzentrierter Säure lösen sie sich. Das retikulierte Gewebe quillt in Salzsäure bis 3%, bleibt unverändert zwischen 3—10% und löst sich nach 24 Stunden in 25% Säure und in höheren Konzentrationen derselben. Nach Behandlung

mit verdünnter Säure löst sich beim Kochen die Sehne viel rascher, als das retikuläre Gewebe auf.

Im natürlichen Magensaft des Hundes lösen sich die Sehnen nicht schneller, als das elastische Gewebe auf; im künstlichen dagegen löst sich zuerst die Sehne, dann das retikulierte Gewebe, dann die elastische Faser auf. Pankreatin greift weder die Sehne, noch das retikulierte Gewebe an. Werden beide gekocht, so werden sie leicht in Pankreatin verdaut.

Die Fäulnis zerstört weder die Sehne, noch das Retikulum, wenn sie der Leiche entnommen worden sind. In der Leiche, und namentlich bei höherer Temperatur (37°) zerfallen beide Gewebe in kurzer Zeit.

364. Zum Nachweis der elastischen Fasern in Schnitten bediene man sich der Orcëinmethode (siehe § 675.)

365. Man hat Gelegenheit genug, **Fettzellen** (Fett ist löslich in Äther, heifsem Alkohol, Benzol und Chloroform) in frischem Zustande an überlebenden Gewebsstücken zu untersuchen, beispielsweise an den Mesenterien kleinerer und auch gröfserer Tiere. Aber auch ein Zupfpräparat eines dem Unterhautbindegewebe entnommenen Stückes liefert genügendes Material. Man trifft häufig auch Margarinkrystalle in Fettzellen an.

366. Das Fett ist so glänzend und die Fettzellen so grofs, dafs die feineren Strukturverhältnisse desselben am frischen Material unmöglich erkannt werden können. Um sich über den Bau einer Fettzelle zu orientieren, ist die im § 361 angegebene subepidermoidale Silbernitratlösung-Injektion zu empfehlen. An den Zupfpräparaten davon erhält man fast konstant isolierte Fettzellen, und diese zeigen einen deutlichen Fetttropfen, umgeben (im optischen Durchschnitt) von einem Protoplasmaring, der an einem Zellenpol sich verbreitert und den Kern der Fettzelle einschliefst.

367. Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer $^1/_2$ bis 1%igen Osmiumsäure, so zeigen die Fettzellen im allgemeinen eine schwarze Färbung. Doch ist auch hier Vorsicht geboten, da nicht immer alles, was sich mit Osmiumsäure schwärzt, Fett ist (es gilt hier auch das in § 254 über das Verhalten verschiedener Gewebsteile zu Farbstoffen gesagte). Untersucht man die so behandelten Fettzellen näher, indem man sie mit Nadeln möglichst isoliert, so bemerkt man einen fast die ganze Zelle ausfüllenden, schwarz gefärbten Fetttropfen (wir sprechen von der Zelle

eines Erwachsenen), und dieser wird umringt (im Sehfelde) von einem Gürtel grauen Protoplasmas und der Membran; das Protoplasma zeigt, wenn die Lage der Zelle eine günstige ist, an einer Stelle eine linsenförmige Verdickung, die den Kern beherbergt. Solche mit Osmiumsäure behandelte Fettstückchen, die längere Zeit in schwächerem oder stärkerem Alkohol aufgehoben werden, eignen sich nicht mehr zur Demonstration der eben angeführten Verhältnisse und es ist am zweckmäfsigsten, möglichst rasch zu Werke zu gehen. Die in Osmiumsäure fixierten Stücke eines Fettläppchens werden auf dem Objektträger mit destilliertem Wasser gewaschen, gezupft und in Glycerin (siehe § 203) übergeführt, das Deckgläschen umrandet, und so ein dauerndes Präparat angefertigt.

Um Fett mit Osmiumsäure nachzuweisen, übertrage man die mit Osmiumsäure behandelten Präparate nicht direkt in Alkohol, weil sie dadurch im ganzen geschwärzt werden. Am besten verfahre man so: Man behandle mit 1—2%iger Osmiumsäurelösung im Dunkeln, wasche mit destilliertem Wasser aus und übertrage nun in Alkohol, worin erst die intensive Färbung der Fettropfen zum Vorschein kommt.

Das mit Osmiumsäure resp. Osmiumsäuregemischen schwarz gewordene Fett löst sich in Terpentin, Xylol, Toluol, Äther und Kreosot, nicht aber in Nelkenöl, Bergamottöl und nicht in Chloroform. — Die Löslichkeit in mit Osmiumsäure allein behandelten Präparaten ist aber eine viel geringere, als in mit den Gemischen behandelten (Flemming 89a und 89b). — Das mit Müllerscher Flüssigkeit behandelte Fett schwärzt sich nachträglich mit Osmiumsäure.

Fetthaltige Gewebsteile werden also zweckmäfsig in Paraffin durch Chloroform (siehe § 129) übergeführt.

368. Untersucht man frische Fettzellen, die mit einem Deckglase bedeckt sind, in Wasser oder indifferenter Flüssigkeit, so gewahrt man, dafs einige oder viele Fettzellen (d. h. die Membranen derselben) zerplatzen, und dafs gröfsere oder kleinere Tropfen frei werden und oft konfluieren. Man kann selbstverständlich die Prozedur dadurch beschleunigen, dafs man auf das Deckgläschen (etwa mit einer Nadel) drückt.

369. Die Fettablagerungen in der Zelle enthalten nicht gleichartige Stoffe, sondern verschiedene in Peripherie und Centrum. Solger (93).

5. Kapitel.

Knorpel.

370. Der Knorpel kann an vielen Stellen, namentlich der hyaline schon **frisch** untersucht werden. Man nimmt zu diesem Zweck entweder den knorpeligen Teil des Hyposternums; oder aber des Episternums auch der Scapula eines Frosches oder auch des Processus xiphoideus kleiner Säuger. Solche dünne Knorpellamellen können, mit einem Stück Leinwand von Weichteilen gesäubert, in indifferenter Flüssigkeit (siehe § 70 ff.) untersucht werden. Man kann auf diese Weise die Knorpelgrundsubstanz, die Kapseln und die Zellen darin, welche die Kapseln ganz ausfüllen, mit Leichtigkeit sehen.

371. Aber auch grofse Stücke Knorpel sind der Untersuchung frisch zugängig. Die Konsistenz des Knorpels ist nämlich eine derartige, dafs man ohne weiteres mit einem mit indifferenter Flüssigkeit benetzten Rasiermesser dünne Schnitte anfertigen und in der indifferenten Flüssigkeit sich ansehen kann.

372. Auf dieselbe Weise können frische Netzknorpelstücke mit dem Rasiermesser geschnitten (siehe § 66), oder wenn sehr dünn, wie die Ohrmuschel einer Maus, nach der Entfernung der beiden Hautlamellen ungeschnitten untersucht werden.

373. Die hyalinen Knorpel haltigen Gewebsteile, welche mit Sublimat fixiert und nachträglich mit Safranin tingiert wurden, zeigen eine sehr prägnante Orangefärbung der Knorpelgrundsubstanz. Hämatoxylin färbt dieselbe blau, auch Dahlia (§ 339) färbt sie.

374. Man kann innerhalb der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels die Existenz eines sogenannten Saftkanälchensystems nachweisen entweder durch Höllensteinstift oder durch Chromsäure (Hencke und Budge) oder aber auch durch Äther und Kollodium (Budge, 77 u. 79).

Um dieses System darzustellen, entnehme man frische Schnitte dem Gelenkknorpel des Fufses eines Ochsen und behandle dieselben mit 25 bis 30%iger Chromsäurelösung. Schon nach einigen Minuten kommt ein ganzes System von Linien in der Knorpelgrundsubstanz zum Vorschein. Ist das geschehen, so wird der Schnitt mit viel Wasser bis zur vollkommenen Entfärbung ausgewaschen; dann kann mit Eosin oder auch Hämatoxylin nachgefärbt werden. Die Schnitte werden in Glycerin oder auch Canadabalsam eingeschlossen. Wolters (91) empfiehlt zu demselben Zwecke das Färben der

Knorpelschnitte in verdünnter (bis veilchenblauer Farbe) Delafieldscher Hämatoxylinlösung 24 Stunden und nachträgliche Behandlung derselben 10 Minuten lang in konz. alkoholischer Pikrinsäure-Lösung.

375. Knorpel der Kephalopoden zeigt verzweigte Knorpelzellen, welche miteinander anastomosieren.

376. Um Netzknorpel zu untersuchen (Ohrmuschel, Epiglottis etc.), fertige man sich, nachdem man ihn mit Alkohol fixiert hat, dünne Schnitte, welche nun beliebig gefärbt werden können, z. B. Borax-Karmin, Safranin etc. An solchen Präparaten aber, namentlich in Canadabalsam, sieht man die feinen und dichten elastischen Netze kaum. Um diese darzustellen, kann man die Schnitte aus dem Wasser in eine sehr dünne Jodlösung einlegen, welche in kurzer Zeit die elastischen Netze braun färbt.

Bei dem Jodzusatz achte man auf das Vorhandensein des Glykogens in den Knorpelzellen (es kommt auch im hyalinen Knorpel vor), welches mahagonibraun erscheint. Diese Farbe schwindet beim Erwärmen.

377. Will man Dauerpräparate anfertigen, so tingiere man dünne Netzknorpelschnitte mit Pikrokarmin; es färben sich dann elastische Netze gelb, die Kerne der Knorpelzellen rot.

378. Noch mehr empfehlen wir folgende Methode: man tingiere dünne Schnitte mit einer wässerigen Säurefuchsinlösung, wasche dieselben längere Zeit in Alkohol aus und übertrage sie nach den allgemeinen Regeln in Canadabalsam; es erscheinen dann die Netze intensiv rot, das Übrige, aufser den Kernen, farblos.

379. Knorpel bei älteren Individuen namentlich Rippenknorpel, aber auch Larynxknorpel etc., zeigen Kalkeinlagerungen und müssen daher, nachdem sie fixiert worden sind, entkalkt werden (siehe § 383 ff.).

380. Rippenknorpel des Erwachsenen und embryonale Knorpel bieten häufig Material für das Studium von mehreren Tochterknorpelzellen in einer Kapsel.

381. Die knorpelhaltigen Organe lassen sich nicht gut mit Eiweifs auf dem Objekträger, namentlich wenn die Schnitte etwas dick sind, aufkleben, weil sie sich beim Erhitzen werfen.

382. Der bindegewebige Knorpel wird aus der Zwischenwirbelscheibe etc. entnommen und entweder mit Osmiumsäure oder noch besser mit Pikrinsäure fixiert und *mit Pikrokarmin* gefärbt.

Auch kleinere Stückchen, die in absolutem Alkohol fixiert worden sind, die dann geschnitten und mit Hämatoxylin und Eosin (s. § 261 ff.) gefärbt werden, zeigen instruktive Bilder.

Literatur zu Kap. 5: Flesch (80).

6. Kapitel.

Knochen und Zähne.

383. In der organischen Grundmasse des Knochens sind verschiedene anorganische Substanzen und namentlich Kalksalze enthalten, welche dem ganzen Knochen die Festigkeit verleihen. Will man den Knochen schnittfähig machen, so mufs man diese Kalksalze entfernen, entkalken. Man behandelt zu diesem Zweck den Knochen, auch Zähne mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden dieser Säuren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser resp. Spiritus löslich sind. Auf diesem Prinzip beruht die Entkalkung.

384. Die gebräuchlichsten **Entkalkungsflüssigkeiten** (siehe auch Haug 91a) sind die folgenden:

385. Salzsäure $^1/_2$—1%, die oft zu wechseln ist,

386. eine 1%ige Salzsäurelösung zu gleichen Teilen mit einer 1%igen Chromsäurelösung,

387. konzentrierte Pikrinsäurelösung und Pikrinsalpetersäure, nicht aber Pikrinschwefelsäure wegen der Entstehung des schwerlöslichen Gipses,

388. Salpetersäure (gemeint ist Acidum nitricum crudum mit 61%igem Säuregehalt und 1,40 spezifischem Gewicht), die 3—9%ig angewandt wird, in wässeriger Lösung oder noch besser gelöst in 70%igem Spiritus mit oder ohne Zusatz von Kochsalz (s. § 391).

389. Die erste Flüssigkeit darf wohl nie auf ganz frische Objekte angewandt werden, sondern nur auf vorher fixierte; aber auch diese, wenn sie grofs sind und längere Zeit in der Entkalkungsflüssigkeit liegen, verändern sich sehr stark. Besser entkalkend und fixierend zugleich wirkt die zweite Flüssigkeit. Sehr gute Resultate erzielt man mit Pikrin- und Pikrinsalpetersäure, aber diese Flüssigkeiten dringen nur sehr wenig in die Tiefe, und die Entkalkung geht aufserordentlich langsam von statten. Die

Salpetersäure (namentlich schwächere Lösungen derselben auf kleinere Objekte angewandt, die vorher gut fixiert waren) liefert ebenfalls sehr Gutes. Statt des Wassers wird Kochsalzlösung empfohlen, durch welche die quellende Wirkung der Säuren aufgehoben wird (s. § 391). Bei allen diesen Flüssigkeiten gilt die Regel, möglichst viel Flüssigkeit zu nehmen und dieselbe möglichst oft zu wechseln.

Die Zeit der Entkalkung richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, Konzentration derselben, Temperatur u. s. w., dauert aber immerhin ziemlich geraume Zeit, mitunter wochenlang. Der Knochen ist dann entkalkt, wenn er so weich geworden ist, dafs man ihn schneiden kann. Dies mufs man durch Probieren feststellen, indem man versucht, Schnitte darzustellen oder mit einer feinen Nadel in den Knochen einzustechen.

Die in einer dieser vier Flüssigkeiten entkalkten Stücke werden längere Zeit ausgewaschen, 24 Stunden und darüber, bis sie die Farben resp. die Säuren vollkommen dem Wasser abgegeben haben, und kommen dann, wie die fixierten Stücke, in Spiritus von allmählich steigender Konzentration.

390. Alle diese Flüssigkeiten bringen die Grundsubstanz des Knochens zum Quellen, und so kommen die meisten Primitivröhrchen zum Verschlufs; die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen geht ebenfalls verloren.

391. Um auch diese zu erhalten, hat v. Ebner (75) eine wässerige Kochsalz-Salzsäurelösung vorgeschlagen, die folgendermafsen zusammengesetzt ist:

Eine kaltgesättigte Kochsalzlösung wird mit zwei Volumina Wasser verdünnt und 2% Salzsäure (für Zähne 10 bis 20%) zugesetzt. Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, wird täglich etwas Salzsäure zugesetzt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sie werden dann mit zur Hälfte gesättigter wässeriger Kochsalzlösung gewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch allmähliches spurweises Zusetzen von Salmiakgeist nach und nach gehoben wird, und zwar so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Der Knochen kann geschnitten werden. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate.

392. Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder für Felsenbeine ganz kleiner Tiere kann man sich auch der Chromosmiumsäure (1%ige Osmiumsäure *10 ccm*, 1%ige Chromsäure 25 ccm, destilliertes

Wasser 65 ccm) bedienen und läfst diese 1—2 Tage einwirken. Das Auswaschen geschieht in 70%igem Spiritus.

393. Für sehr kleine Objekte, die sehr wenig Kalk enthalten, genügt aber schon der Aufenthalt derselben in einer schwachen Chromsäure, wie sie zum Fixieren gebraucht wird, resp. in der Müllerschen Lösung, welche auch etwas freie Chromsäure zu enthalten pflegt.

394. Man gewöhne sich, die Entkalkung erst an fixierten Stücken vorzunehmen; wenn auch die Zeit, die zur Entkalkung solcher notwendig ist, eine viel längere ist, so werden doch die Weichteile viel besser geschont.

395. In den Angaben über Phloroglucin (Haug, 91 b) folgen wir v. Kahlden (95). Das Phloroglucin wirkt nicht selbst entkalkend, schützt vielmehr die Gewebe vor der gleichzeitig anzuwendenden Säure, man kann daher letztere in so starker Konzentration einwirken lassen, dafs die Entkalkung bei kleinen Knochenstücken nach einer halben, bei härterem Knochenmaterial nach einigen Stunden vollendet ist. Das Präparat ist deshalb während der Anwendung der Methode fortwährend zu kontrollieren. — Herstellung der Lösung: Phloroglucin 1,0 wird in reiner, nichtrauchender Salpetersäure 10,0 unter vorsichtigem Erwärmen gelöst, am besten unter dem Abzug des chemischen Herdes, da bei der Mischung unter stürmischer Entwicklung braunroter Dämpfe von salpetriger Säure eine bedeutende Wärmeentwicklung eintritt. Zu dieser (rubinroten) Stammlösung werden hinzugesetzt 10%ige wässrige Salpetersäurelösung 100 ccm.

Eine etwas langsamer wirkende Entkalkungsflüssigkeit ist die folgende:

Phloroglucin	1,0
Acid. nitric.	5,0
Alkohol	70,0
Aqua dest.	30,0

396. Als eine schonend entkalkende Flüssigkeit, auch auf bereits fixierte Objekte anzuwenden, empfiehlt Thoma (91) Alkohol-Salpetersäure (abs. Alkohol 5 Vol., Acid. nitr. concentr. [Sp. G. 1,3] 1 Vol.). Diese Flüssigkeit ist täglich zu wechseln und entkalkt in wenigen Tagen. Ausgewaschen wird in 95%igem Spiritus mit Zusatz von präzipitiertem kohlensaurem Kalk im Überschufs. Nach 8 bis 14 Tagen verlieren die Präparate jede Spur der Säure und werden, um Kalk zu entfernen, mit reinem 95%igem Spiritus gewaschen.

397. Der so vorbereitete und ausgewaschene Zahn resp. Knochen läfst sich, mit Celloidin (siehe § 134) durchtränkt, schneiden.

398. Will man getrennt die **Weichteile** für sich untersuchen, so kann man durch geeignetes Sprengen des Zahns resp. der Diaphyse des Knochens, welches bei einer gewissen Spannung im Schraubstock plötzlich und ohne Splittern zu erfolgen pflegt, grofse Stücke der Pulpa resp. des Marks intakt herausnehmen oder man spalte mit Hammer und Meisel, wobei man die Weichteile weniger leicht lädiert. Falls diese keine Hartteile, sekundäre Dentinbälkchen, resp. spongiöse Bälkchen der nicht ganz resorbierten endochondralen Diaphyse enthalten, können sie ohne weiteres fixiert und nach den allgemeinen Regeln weiter behandelt werden.

399. Die Elemente des Knochenmarkes können an auf Deckgläschen ausgebreiteten Präparaten (siehe § 330ff) untersucht werden.

400. Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von **v. Koch** (78) mit so grofsem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten Methode. Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahnschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alkohol und Terpentinöl resp. Chloroform in eine Mischung von Canadabalsam und Terpentinöl resp. Chloroform übertragen. Durch allmähliches Verdunsten des Chloroforms resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen ein paar Wochen in Anspruch nimmt, wird der den Zahn imprägnierende Canadabalsam und die Umgebung steinhart. Röse (92) empfiehlt, die Präparate im Wärmofen bei 50° C. trocknen zu lassen, wozu etwa 3—4 Monate nötig sind. Man kann, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, am Schlusse etwas rascher eindampfen, nur mufs man bei Beginn des Eindampfens möglichst geringe Temperaturgrade wählen. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden, wie die Hartgebilde allein.

401. Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so *wähle man* ganz dünne Knochenlamellen; Nasenmuscheln

und Siebbeinzellenwände u. s. w. liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergrößerung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kann. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

402. Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Schliffe** her, indem man folgendermaßen verfährt. Man wähle alte, gut macerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt und die kleinsten Hohlräume im Knochen auch Primitivröhrchen sind mit Luft gefüllt. In gewöhnlicher Weise macerierte Knochen sind nicht geeignet, vielmehr wähle man verweste, im Lauf der Jahre vom Regen ausgewaschene alte Knochen, wie man sie in Abdeckereien etc. findet.

In neueren Macerationskammern der Anatomien werden die Knochen so vollkommen entfettet, dass sie nach dem Trockenwerden ohne weiteres für diese Zwecke ebenfalls benutzt werden können.

Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte vermittelst einer Laubsäge eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will; man beginnt mit Quer- und Längsschliffen. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen werden die Flächen vollkommen eben gemacht. Die eine Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte mit Canadabalsam befestigt, welche Prozedur eine besondere Übung verlangt. Es geschieht dies, indem man auf der Glasplatte ein Stückchen festen Canadabalsam durch Erwärmen über der Flamme flüssig macht. Dann legt man den Schnitt auf und achtet dabei darauf, dafs zwischen Schliff und Glasplatte keine Luftblasen verbleiben. Nun wird auch die andere Fläche auf einem harten planen Schleifstein geschliffen, bis die ganze Lamelle eine sehr dünne wird.

Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Canadabalsam befestigt gewesen, was man an

den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt, brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, dafs man ihn, ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend, von der einen und dann von der andern Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird.

Diese Methode ist keine sichere, und namentlich der Anfänger mache sich auf viel Materialverlust gefafst. Die oben im Text geschilderte Methode des Schleifens ist namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden, und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc. mit ihr schleifen, nur dafs man, je nach der Härte, entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

403. Der Schliff kann, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, entweder gleich in Canadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objektträger benutzt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Canadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht, wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden. Man löst daher besser die nun sehr vorsichtig zu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Man läfst den Schliff trocknen und betrachtet denselben etwa im Wasser; man sieht in der ersten Zeit aufserordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen. Es tritt allmählich, aber sehr langsam Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Thatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

404. Einschlufs des lufthaltigen Schliffes. Man erwärme ein Stückchen festen (durch Grübler zu beziehen) Canadabalsams auf dem Objektträger, bis es flüssig wird und nehme etwa entstehende Luftblasen mit einer Nadel weg. Nun lege man den vorher lufttrocken gemachten, weifsgewordenen Schliff auf den flüssigen Canadabalsam und bedecke rasch mit einem Deckgläschen. Dabei hat man darauf zu achten, dafs besonders auch der Raum zwischen Schliff und Deckgläschen mit Canadabalsam gefüllt wird, was man eventuell durch Drücken mit der Nadel auf *das Deckglas* oder Nachwärmen erreichen kann. Die Prozedur

gelingt nur, wenn man rasch arbeitet, der Canadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Man hat also ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

405. Auch an den Schnitten durch entkalkte Knochen gewinnt man durch Eintrocknen, aber nur an kleinen Bezirken mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Körperchen, die man auf dieselbe Weise dauernd einschliefsen kann (Flemming).

406. Man kann bei Schliffen aber auch anstatt der Luft einen Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** (Ranvier [75]) löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser oder einen andern, z. B. Methylviolett. — Man verfährt dabei folgendermafsen: Man nimmt eine alkoholische konzentrierte Lösung von Anilinblau, am besten in einer kleinen ca. 15 g fassenden Abdampfschale, nun lege man den lufttrockenen Schliff hinein, erwärme das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Prozedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese mit Messer, Pincette und Pinsel, soweit es geht, und schliefslich durch Polieren auf einer Glastafel, die mit einer 2 bis 3 %igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt werden darf. Man spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schliefse definitiv ein in Glycerin-Kochsalz; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er schnell getrocknet und nach der vorhin erwähnten Methode in harten Canadabalsam eingeschlossen. Diese Methode gelingt nur bei verwitterten Knochen (s. § 402). Vorsicht ist notwendig beim Erhitzen der Farbe; entzündet sich dieselbe, so bedecke man die Abdampfschale bis zum Erlöschen der Flamme mit einem bereit gehaltenen flachen Deckel und fahre dann fort.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Canadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zuläfsig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

407. Flemming (86) entkalkt, schneidet, trocknet die Schnitte ein und imbibiert dann; s. § 405

408. Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die **Zähne** (s. v. Ebner [91]) übertragen werden, wobei

selbstverständlich die Dentinröhrchen mit Luft resp. Farbe gefüllt werden. (Schleifen macerirter Zähne, Kochsche Versteinerungsmethode [s. § 400]).

Die Struktur der Zähne kann auch an Schnitten untersucht werden. Selbstverständlich müssen hierzu die Zähne entkalkt sein. Man wendet dieselben Methoden wie beim Knochen an. Salzsäure, verdünnte Chromsäure und Pikrinsäure lösen jedoch die Schmelzprismen auf, wobei die Kittsubstanz der letzteren zuerst in Lösung tritt (von Ebner).

Schmelz junger Zähne färbt sich in Chromsäure und deren Salzen braun, in Osmiumsäure schwarz. Schon in den Schmelzzellen (Adamantoblasten) sieht man Tropfen, welche die Färbung der Osmiumsäure annehmen. Graf Spee (87). Ätzt man Längsschliffe durch den Schmelz mit Salzsäure, so tritt die Kreuzung seiner Prismen deutlich hervor (Schregersche Linien).

Um die Fibrillen des Dentins zu sehen, entkalke man einen Zahn in der von v. Ebner empfohlenen Flüssigkeit (s. § 391); Zähne jugendlicher Individuen sind hierzu besonders geeignet. Auch cariöse Zähne liefern mitunter sehr deutliche Bilder. Ätzen der Schliffe mit Salzsäure führt ebenfalls zum Ziele. Das Cement und namentlich das zellenarme, enthält eine grosse Zahl von Sharpeyschen Fasern.

Die Entwickelung der Zähne studiere man an Embryonen, deren Kiefer man fixiert, entkalkt und in Serienschnitte zerlegt. Am Bequemsten verschafft man sich Schafembryonen, welche in Schlachthäusern fast immer zu haben sind.

409. Kleine frische Knochen oder Zähne, oder mit der Säge dargestellte Plättchen solcher, die nicht über $^3/_4$ mm dick sein dürfen, kommen in ein Gemisch von 1% Goldchloridlösung und reiner Ameisensäure (2 Vol. zu 1 Vol.) auf 24 Stunden, werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit gewaschen und in eine Lösung von Gummi arab. in Glycerin auf 24 Stunden übertragen. Nach abermaligem Waschen mit destilliertem Wasser und Überführung in Alkohol kann mit Celloidin oder Paraffin durchtränkt und geschnitten werden u. s. w. Die Schnitte zeigen exakt dunkelviolett gefärbte Primitivröhrchen resp. Dentinröhrchen in heller Grundsubstanz (Lepkowsky, 92).

410. An den mit Anilinblau behandelten Knochenschliffen sieht man, namentlich an Querschliffen farblose, scharf begrenzte Kreise. Es sind **Sharpeysche** Fasern. *(Ranvier.)*

411. Um die Knochenkörperchen Virchows zu isolieren, d. h. die Knochenhöhlen mit dazu gehörigen Primitivröhrchen mit der sie begrenzenden kompakteren Knochensubstanz, verfährt man in der Weise, dafs man dünne Schliffe in einer konzentrierten Salpetersäure Virchow (50) einige Stunden bis einen Tag verweilen läfst; die Schliffe werden auf einem Objektträger deponiert, mit einem Deckgläschen bedeckt. Drückt man auf das Deckgläschen mit einer Nadel, so kommen in der Regel ellipsoidische Körper mit zahlreichen Ausläufern isoliert zum Vorschein.

412. Feine Knochenschliffe können im rotglühenden Platintiegel über einer Gasflamme $^1/_2$—1 Minute geglüht (bei längerem Glühen werden die Schliffe meist undurchsichtig), und dann untersucht werden. Beim Glühen wird die organische Substanz zerstört und man bekommt beispielsweise die Sharpeyschen Fasern, wenigstens die nicht verkalkten, äufserst deutlich zu Gesicht. (Kölliker 86).

413. Die Sharpeyschen Fasern kann man auch durch Färbung am entkalkten Knochen darstellen. Kölliker (86) verfährt folgendermafsen. Ein Schnitt von Knochenknorpel wird mit Ac. acet. conc. durchsichtig gemacht und sofort auf kurze Zeit, $^1/_4$, $^1/_2$ bis 1 Minute, in die unverdünnte Indigokarminlösung gebracht, hierauf in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann entweder in Glycerin oder in Canadabalsam aufgehoben. Die Sharpeyschen Fasern werden blafsrot bis dunkelrot, die übrige Knochensubstanz blau.

414. Für Studium der **Ossifikation** nehme man als Material am besten Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, entkalke dieselben und schneide in der Längsrichtung etc..

415. Als Färbung kann man anwenden: Methylgrün-Eosin (siehe § 270) oder Karmin-Hämatoxylin. Nach der Färbung mit Borax-Karmin nachzufärben mit Hämatoxylin (Strelzoff 73), Norris und Shakespeare (siehe § 258).

416. Vermittelst der Doppelfärbung Boraxkarmin — Bleu de Lyon (s. § 257) färbt sich aufser dem Knochengewebe und den Bindegewebsfibrillen auch das entkalkte Dentin, und man kann die feinste Ablagerung desselben auf diesem Wege nachweisen. (Röse 93.)

417. Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt dieselben sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen. Klaatsch 87.

Literatur zu Kapitel 6: Schaffer (88 und 93), für Zähne v. Ebner (91).

7. Kapitel.

Muskel, Nerv und Nervenendigungen im Muskel.

418. Die **quergestreiften Muskeln**, z. B. einem Schenkel eines Frosches entnommen, werden **frisch** auf einem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung oder einer andern indifferenten Flüssigkeit untersucht. Die Querstreifung von solchen Muskeln ist kaum zu sehen, besser die Fibrillärstreifung.

Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind in der Regel Fettkügelchen.

419. Nach einiger Zeit hebt sich schon bei dieser Untersuchungsweise das Sarcolemma gewöhnlich ab.

In einer noch kürzern Zeit kann man das Sarcolemma dadurch zur Ansicht bringen, dass man zu frisch gezupften Muskelfasern etwas Wasser zusetzt; es hebt sich alsdann das Sarcolemmahäutchen so ab, dafs es mehr oder weniger auffällige Hervorragungen bildet.

420. Für die Darstellung des Sarcolemmas empfiehlt Solger (89 a) statt des gewöhnlichen Wassers resp. Kochsalzes die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung des kohlensauren Ammoniaks. Schon nach 5 Minuten hebt sich der Sarcolemmaschlauch an sehr vielen Stellen ab.

Über Sarcolemma siehe auch Froriep (78).

421. Man sieht **Querstreifung** sehr gut an alten in **Spiritus** längere Zeit (Monate, Jahre) aufbewahrten Wirbeltiermuskeln, die man nach der Isolation auf dem Objektträger oder in Schnitten mit Hämatoxylin färben und in verdünntes Glycerin einschliefsen kann. Die doppeltbrechenden Substanzen erscheinen dunkelblau, das Übrige heller bis farblos. Denselben Effekt bewirken auch andere Farbstoffe z. B. die basischen Aniline, jedoch nicht so prägnant.

422. Es ist eine Anzahl von Reagentien vorhanden, die den fibrillären Zerfall der Muskelfaser beim Zupfen begünstigen.

423. Spiritus in allen Konzentrationen (ausgenommen die allerschwächsten etwa bis 10%),

424. Sehr dünne Chromsäurelösungen (unter $^1/_{10}$%), dünne Lösungen der chromsauren Salze.

425. Schwache Essigsäure ($^1/_2$ bis 1%), eine $^1/_2$ bis 5%ige Salzsäurelösung, Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben.

426. Verschiedene Käferarten (z. B. Hydrophilus piceus) werden nach Rollett (85) äufserlich abgetrocknet und lebend in Alkohol von 93% gebracht. Die Muskeln zeigen Zerfall in Bowman'sche Scheiben (Hauptsubstanz, doppelbrechender Abschnitt Brückes, anisotrop) mit erhaltenem Sarcolemma. Man untersucht sie nach 24—48 Stunden in verdünntem Glycerin. Nach 10—12 Tagen verwende man sie, wenn man, was sehr zu empfehlen ist, beabsichtigt, dieselben mit Hämatoxylin zu tingieren: Renauts Glycerinhämatoxylin (s. § 247). Dasselbe verdünne man stark mit destilliertem Wasser, zupfe in demselben und färbe 6—12 Stunden.

Verdünnte Säuren dagegen machen die Substanz der Bowman'schen Scheiben selbst quellen und lösen dieselbe endlich auf (Krause). Die Säurewirkung studiere man nach Rollett, indem man Käfermuskeln, welche 24 Stunden in 93%igem Alkohol gelegen haben und die den früher beschriebenen Scheibenzerfall zeigen, in Glycerin zupfe und an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen Glycerin bringe, welchem eine Spur von 1%iger Ameisensäure zugesetzt worden war. Dann untersuche man auch in 1%iger Ameisensäure direkt.

427. Zum Studium der Muskeln (auch der Cohnheimschen Felder) empfiehlt sich Vergoldung (siehe auch § 456 ff.). Rollett verfährt folgendermafsen: Man bringe ganz frische Käfermuskeln nach Retzius in 1/5—1/2%ige Goldchloridlösung, ziehe sie mit Platinnadeln etwas auseinander, lasse sie 20—25 Minuten im Goldbade verweilen und bringe sie dann in 1%ige Ameisensäure oder Bastian-Prichardsche Reduktionsflüssigkeit (siehe § 689).

428. Es ist nicht gleichgültig, ob man einen gedehnten oder nicht gedehnten, kontrahierten oder schlaffen Muskel untersucht.

Um alle diese Zustände des Muskels sich zu beschaffen, verfährt man in der Weise, dafs man durch eine passende Lage der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer Muskelgruppe den gedehnten oder nicht gedehnten Zustand herstellt. Ist das geschehen, so injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spritze etwa 1/4—1/2 ccm einer 1%igen Osmiumsäure, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15 bis 20 Minuten schneidet man mit einer krummen Schere in dieser Weise fixierte Stücke aus, wäscht sie ebenso lange mit destilliertem Wasser und fasert auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten.

Solche gedehnte und nicht gedehnte Muskeln können aber auch in Tetanus versetzt werden, indem man die

Muskeln beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in ganz gleicher Weise weiter behandelt (Ranvier [89]).

429. Auch rote und weifse Muskeln sehen nicht ganz gleich aus, namentlich was die Höhe der Scheiben und die Verteilung der Kerne betrifft.

Die Mehrzahl der Muskeln der unteren Extremität des Kaninchens sind weifs, rot sind dagegen der Semitendinosus, Cruralis, Adductor brevis, Soleus, Quadratus femoris (Ranvier 89).

430. Um die Verteilung der Kerne in verschiedenen Muskelarten der verschiedenen Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (siehe § 456 ff.) und quer resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarcoplasma.

431. Um die Beziehungen der Muskelfaser zur Sehne zu studieren, empfehlen sich die Methode von Weismann und die von Ranvier.

432. Kleine Muskeln mit entsprechenden Sehnen werden mit 35%iger Kalilauge 1/4 Stunde lang behandelt und dann auf dem Objektträger die Stelle zwischen Muskel und Sehne gefasert. Es lassen sich Muskelfasern im Zusammenhang mit der entsprechenden Sehne isolieren (Weismann 61).

433. Ranvier empfiehlt, einen lebenden Frosch in Wasser von 55° C. zu setzen; er stirbt darin sehr bald, und die Muskeln werden starr. Man lasse den Frosch in dem kälter werdenden Wasser 1/4 Stunde, dann wird er herausgenommen. Man schneidet mit einer Schere einen kleinen Streifen aus, der gleichzeitig Muskel und Sehne enthält und fasert im Wasser.

434. Auf die Beziehungen der Fibrillen zu Sehnenfäserchen an dem Polster der Unterlippe des Kaninchens macht W. W. Podwissotzki (87) aufmerksam, und zwar mit der Methode: Flemmingsche Flüssigkeit, Safranin und Ausziehen mit Pikrinsäure.

435. Glatte Muskelfasern werden mit starker bis 20%iger **rauchender Salpetersäure isoliert.** Frische Stücke der Muskelhaut eines Darmstückes werden in die eben angegebene Salpetersäure auf einige Stunden (2—3 Stunden) eingelegt. So vorbereitete Muskeln werden mit Wasser gewaschen und lassen sich sehr gut auf dem Objektträger zerfasern. Läfst man die Stücke in der Salpetersäure längere Zeit (12—24 Stunden), so fallen die Muskeln beim Schütteln

von selbst auseinander; die einzelnen Muskelzellen aber sind schlecht erhalten, unregelmäfsig gezackt und der Kern ist vollkommen aufgelöst. Solche Präparate können in Glycerin als Dauerpräparate eingeschlossen werden. Reichert (49 a).

436. Legt man aber kleinere Stückchen in eine **Kalilaugelösung** von specifischem Gewicht von 1,33 (32,5 %) und beläfst sie dort $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden, so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern aufserordentlich deutliche Spindeln darstellen. Ist der Macerationsprozefs vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. In derselben Weise isoliert man die verzweigten quergestreiften Muskelzellen aus der Zunge des Frosches. Auch in Spiritus gewesene Präparate lassen sich auf die angegebene Weise macerieren. Moleschott (59 und 63.)

437. Es ist zwar möglich, durch vorsichtiges Neutralisieren der Kalilauge mit Säuren, Auswaschen und Färben solche Präparate in Glycerin überzuführen, die Prozedur ist aber eine so komplizierte und minutiöse, dafs wir sie nicht empfehlen.

Born bereitet die durch die Kalilauge isolierten Muskelfasern dadurch zum Einschliefsen vor, dafs er sie zunächst in Glycerin zerteilt und darauf 2—3 Tropfen salzsäurehaltigen Glycerins und Jodtinktur so lange zusetzt, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glycerins nicht mehr verschwindet. Die Jodfärbung der Fasern schwindet später wieder, kann aber durch Karminfärbung ersetzt werden.

438. An kleinen Gefäfsen, z. B. den Mesenterien kleinerer Tiere lassen sich die Kittlinien der glatten Muskelfasern sehr schön darstellen. Solche Bilder findet man gewöhnlich an Mesenterien, die man zum Zwecke der Endothelzeichnung hergestellt hat, vor (siehe § 308).

439. Mit einer 1 %igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches wird mit Paraffin durchtränkt und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittsbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern.

440. An dünnen (5 μ) Querschnitten durch gut fixierte (z B. mit Flemmingscher Lösung) glatte Muskelfasern, etwa der Muscularis des Darmes einer Katze, sieht man zwischen den Muskelfasern Zellbrücken, die den Querschnitten der Zelleisten entsprechen (Barfurth 91). Vergl. auch § 314.

441. Um die **Herzmuskelzellen** mit Kalilauge zu isolieren, verfährt man genau in derselben Weise, nur dafs die Isolation hier in der Hälfte Zeit einzutreten pflegt. Der Zerfall in Zellen ist aber beim Herzen nie ein so vollkommener, wie bei der glatten Muskulatur.

442. Die Muskelzellen der **Purkinjeschen Fäden** werden in der Weise dargestellt, dafs man $^1/_2$ mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig Ranvierschen $^1/_3$ Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch 5%ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches (Ranvier [89]).

Es läfst sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinjeschen Fäden werden abgehoben und zerzupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln isolieren, eventuell isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben, (nicht zu stark) und in Glycerin einschliefsen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde.

443. Die **markhaltigen Nervenfasern** kann man im überlebenden Zustande in einer indifferenten Flüssigkeit (siehe § 70 f.) zerfasern und in dieser Weise studieren.

Frische Nerven, einem eben getöteten Tiere, z. B. Frosch (Nervus ischiadicus) entnommen, werden auf dem Objektträger sorgfältig der Länge nach gefasert. Es empfiehlt sich, auch hier die Ranviersche Halbeintrocknungsmethode zu befolgen (siehe § 354). Ist die Prozedur fertig, so kann man physiologische Kochsalzlösung hinzusetzen und den eigentümlichen Glanz der Markscheide, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvierschen Einschnürungen, die Lantermanschen Segmente und selten die Kerne sehen.

444. Setzt man Wasser hinzu und namentlich destilliertes, so verändern sich in kürzester Zeit in eigentümlicher Weise die Markscheiden; es verschwinden die Ranvierschen Einschnürungen, später auch die Lantermanschen Segmente, und es treten innerhalb der Markscheide eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fliefst das Mark aus und gerinnt zu sehr typisch aussehenden Myelintropfen. Diese letzteren trifft man auch massenhaft, wenn man weifse Substanz des centralen Nervensystems fasert.

445. Zu frisch hergestellten Zupfpräparaten kann man *auch* eine 1%ige Überosmiumsäure zusetzen und in

einer feuchten Kammer 1/2 Stunde einwirken lassen. Die Nerven sind fixiert und die Markscheiden fangen an schwarz zu werden. Die Ranvierschen Einschnürungen bleiben farblos und heben sich dadurch scharf ab. Entfernt man die Osmiumsäure mit Fliefspapier, legt ein Deckgläschen auf die zerzupften Nerven, wäscht zunächst mit destilliertem Wasser, welches man von einer Seite des Deckglases zufliefsen läfst und auf der andern mit einem Streifen Fliefspapier aufsaugt, und läfst dann anstatt des Wassers langsam Glycerin zufliefsen, so kann man in der letzteren Flüssigkeit dauernd einschliefsen (siehe § 203.)

446. Zu frischen gezupften Präparaten kann man ferner wässerige Silbernitratlösung etwa 1/10% hinzusetzen (auch nach § 311). Nach 5 Minuten entfernt man den Tropfen mit Fliefspapier und verfährt im übrigen wie im vorigen Falle, d. h. man wäscht mit destilliertem Wasser unter dem Deckglase, setzt allmählich Glycerin zu etc.

Man erhält auf diese Weise die bekannten **Ranvierschen Kreuze** und die Frommannschen (64) Linien; die letzteren pflegen erst später unter dem Einflusse des Lichtes zu erscheinen. Will man solche Präparate in Canadabalsam einschliefsen, so kann man Wasser durch Alkohol unter dem Deckglase ersetzen, den letzteren mit Nelkenöl; dieses wird mit Fliefspapier entfernt, und man läfst Canadabalsam hinzufliefsen.

Auch folgende Methoden können mit Vorteil in Anwendung gebracht werden.

447. Ein dünner Nerv, etwa der Ischiadicus eines Frosches wird in situ auf einem Stückchen Holz mit Nähfäden aufgespannt, herausgeschnitten und mit einer 1/2%igen Osmiumsäure etwa 12 Stunden behandelt. Der fixierte Nerv wird etwa 1/2 Stunde mit destilliertem Wasser gewaschen, kommt dann direkt in absoluten Alkohol auf etwa zwei Stunden, wird in einem ätherischen Öle ebenso lange aufgehellt und kann nun auf dem Objektträger zerfasert werden. Es wird dazu aber nur das Stück gebraucht, welches innerhalb der Schnürstellen gelegen ist, und zwar in einiger Entfernung, etwa 1/2 mm von derselben entfernt. Solche gezupfte Präparate können direkt in Canadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überflüssige Öl mit Fliefspapier entfernt hat.

448. Beliebig dicke Nerven, z. B. eines Säugetieres, werden im mäfsig gespannten Zustande in eine 1/2 bis 1%ige wässerige Silbernitratlösung auf 12 bis 24 Stunden

gelegt, kurze Zeit mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen. Solche Nerven können entweder wie im vorigen Beispiel gezupft werden, oder aber nach den allgemeinen Regeln z. B. mit Paraffin durchtränkt und der Länge nach geschnitten werden. Es erscheinen nach kurzer Zeit im Lichte Ranviersche Kreuze und Frommannsche Linien und Grenzen der Endothelzellen der Perineurien (lamellöse Scheiden).

449. Vor Jahren hat Kühne (89) auf eigentümliche Netze innerhalb der Markscheide aufmerksam gemacht, die man vermittelst der Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin gewinnen kann. Noch einfacher bringt man diese zur Anschauung, wenn man markhaltige Nerven mit Alkohol und Schwefeläther behandelt, zerfasert und mit Hämatoxylin, z. B. mit Böhmerschem, auf dem Objektträger färbt. Diese Netze, deren Präexistenz noch nicht strikte nachgewiesen ist, färben sich blau und sind die Hornspongiosanetze Kühnes.

450. Die **Schwannsche Scheide und die Kerne** studiert man an mit Osmiumsäure behandelten und gezupften Präparaten.

Die Henlesche Scheide untersucht man an sehr feinen Nerven, die man mit Silbernitrat behandelt nach der bei den Endothelien (siehe § 308) angegebenen Methode.

451. Behandelt man nach Fleischl (74) die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Axenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu einem dünneren (Chromsäure-) oder dickeren (Alkohol-) Faden zusammengebacken — sogenannter Axencylinder.

Um den **Axencylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die Nerven mit sehr schwacher Chromsäure etwa $^1/_{10}$ % oder mit schwachem doppeltchromsaurem Kalium in etwa $^1/_5$ %iger Lösung oder in Holzessig (mit nachfolgender Safraninfärbung) einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sogenannten Axencylinder bloßzulegen. Ganz besonders große Strecken des Axencylinders bekommt man dadurch, daß man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von v. Kölliker (93) empfohlen wird.

452. Um die **Fibrillen** Kupffers (83) im Axenraume zur Darstellung zu bringen, empfiehlt sich folgende Methode: Der Nervus ischiadicus eines Frosches z. B. wird bloßgelegt, auf einem Stückchen Holz in seiner natürlichen Spannung

mit Faden befestigt, ausgeschnitten, auf etwa 4 Stunden in $^1/_2$%ige wässerige Überosmiumsäurelösung gebracht, ebensolange Zeit in destilliertem Wasser ausgewaschen und mit 90%igem Alkohol etwa 24 Stunden nachbehandelt. Den so fixierten Nerven werden Stückchen von etwa $^1/_2$ cm Länge entnommen und in einer gesättigten, wässerigen Lösung des sauren Fuchsins 12 Stunden lang gefärbt und dreimal 24 Stunden in absolutem Alkohol nachbehandelt. Man durchtränke solche Stückchen in gewöhnlicher Weise mit Paraffin (belasse sie aber nur je $^1/_2$ Stunde in den Durchtränkungsflüssigkeiten, und schneide möglichst dünn, nicht über 3 μ). Die Fibrillen erscheinen rot, das interfibrilläre Plasma farblos; am instruktivsten sind die Längsschnitte, welche mit besonderer Sorgfalt orientiert werden müssen.

Man kann ähnliche, jedoch nicht so schöne Resultate erzielen, wenn man statt des sauren Fuchsins Bismarckbraun und ähnliches in analoger Weise anwendet.

453. Remaksche Fasern werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus oder besser den Vagus eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt und dann fasert. Zwischen den markhaltigen Fasern des Vagus findet man zahlreiche sympathische. Die letzteren bleiben bei dieser Behandlung ungefärbt.

454. Für die Darstellung der **Nervenenden in den quergestreiften Muskeln** wähle man, wenn möglich, kurze Muskeln, z. B. die Augenmuskeln. Solche werden ausgeschnitten, auf einem Objektträger ausgebreitet und mit Nadeln vorsichtig der Länge nach gefasert. Setzt man eine 1%ige Essigsäure zu, bedeckt mit einem Deckglase, so treten nach ein paar Stunden die Nerven deutlich hervor, und man kann diese bis in den Muskel verfolgen. Die Essigsäure-Präparate lassen sich nicht dauernd einschliefsen.

455. Injektionen von Methylenblaulösung in Kochsalz, die bei Säugern in die Venen direkt, beim Frosch in die Venen oder in den Lymphsack eingeführt werden, haben in der letzten Zeit zur Erforschung von Nervenenden gedient.

Man verwende hierzu Methylenblau rectificat. (Ehrlich) für vitale Färbung; (die Methode siehe § 491 ff).

456. Für das Studium der Nervenendigungen überhaupt und der im Muskel insbesondere ist die von Cohnheim (67) (für Cornea zunächst) eingeführte sogenannte **Vergoldung** von Bedeutung. Die Vorschrift lautet: kleinere Stücke (in unserem Fall Muskel) kommen in eine $^1/_2$%ige, mit einer Spur Essigsäure angesäuerte Goldchloridlösung,

bis sie gelb werden (einige Minuten bis $^1/_2$ Stunde). Dann werden sie mit dest. Wasser flüchtig abgespült und bleiben in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser im Dunkeln stehen. In der Regel verändern die Stücke hierbei die Farbe, werden gelbgrau, grauviolett, rot, wofür unter Umständen 1—3 Tage nötig sind. Die günstigsten Stellen sucht man in den Nuancen von violett zu roth. — Die Goldmethode ist keine sichere. Sie führt gar oft zu schlechten oder gar keinen Resultaten, und man ist in den meisten Fällen nicht einmal im stande, die Fehlerquellen anzugeben.

Von den für die Nervenenden im Muskel gebräuchlichen Methoden nennen wir als die zwei sichersten die Löwit-Fischersche und die Ranviersche.

457. Die **Löwitsche** (Löwit 75, Fischer 76, Bremer 82) **Methode.** Kleine Muskelstücke (1 mm) werden in $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) gelegt, bis sie durchsichtig werden (1 Minute). Sie werden alsdann in eine kleine Quantität einer 1%igen Goldchloridlösung auf etwa $^1/_4$ Stunde übertragen, in dieser Flüssigkeit werden sie gelb. Die Stücke kommen in die $^1/_3$ Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in der Dunkelheit, man kann sie dann auf ebenso lange in eine konzentrierte Ameisensäurelösung übertragen, in welcher sie ebenfalls im Dunklen gehalten werden.

Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Die centrale Partie der Stücke ist gewöhnlich violett, die periphere schmutzigbraun. Zwischen den beiden Schichten liegen Muskelfasern, welche die am besten tingierten Nerven- und Nervenendapparate aufweisen.

458. Kühne (86) säuert mit $^1/_2$%iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1%igem Goldchlorid und reduziert mit 20- bis 25%iger Ameisensäure gelöst in Glycerin und Wasser zu gleichen Teilen.

459. Ranvier (89) behandelt Muskelstücke, bevor er sie in eine 1%ige Goldchloridlösung überführt, mit Zitronensaft (frisch ausgepreßt und durch Flanell filtriert). Im Zitronensaft verbleiben die Stücke, bis sie durchsichtig werden (Minuten!); von da überträgt man die Stücke in eine 1%ige Goldchloridlösung auf ca. 20 Minuten; mit destilliertem Wasser kurz abgespült, kommen sie in ein schwach angesäuertes Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm *Wasser),* worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen

gelassen werden. Bei so behandelten Stücken ist die Reduktion des Goldes keine vollkommene, deshalb dunkeln die daraus gewonnenen Präparate in der Regel nach; dies ist nicht der Fall, wenn man statt des schwachen Essigsäurewassers 1/3 Ameisensäure (wie bei Löwitscher Methode) 24 Stunden im Dunkeln einwirken lässt.

460. Golgi (80 siehe 94) säuert mit 1/2%iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium 1/2%ig 1/2 Stunde, spült mit Wasser ab und bringt dann in 1%ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

Muschenkoff empfiehlt:

Objekte, nicht über 1/2 ccm, kommen entweder in eine 2%ige doppelchromsaure Ammoniaklösung oder in doppelchromsaures Kalium derselben Konzentration auf etwa 30 Tage. Nach dem Waschen werden die Stücke in frischen Zitronensaft oder in 20% Ameisensäure auf 15—20 Minuten übertragen. Nach Abspülen mit destilliertem Wasser werden die Stücke in eine 1/2%ige Goldchlorid- oder Goldchloridkaliumlösung auf 1/2 Stunde eingelegt. Reduziert wird in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser.

461. Am leichtesten gelingen die Vergoldungen bei Reptilien (unter diesen bei Pseudopus Pallasii), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind die Vögel, Amphibien und Fische.

462. Golgis Nervenendorgane in den Sehnen der Säugetiere und Vögel werden gleichfalls durch Vergoldung dargestellt.

463. Negro (87) empfiehlt, namentlich für Eidechse und Frosch, Hämatoxylin, um an frischen Muskeln in wenigen Minuten die Nervenenden sichtbar zu machen.

464. Zur Darstellung der Nervenenden in den quergestreiften Muskeln empfiehlt Gad (95): Muskelbündel in der Dicke eines Gänsekieles werden auf etwa 18 Stunden in

1. Gewöhnliche Essigsäure 1
   Glycerin 1
   Chloralhydratlösung (1% wässerig) 6

eingelegt, in reinem Glycerin weiter gezupft und dann in die Färbeflüssigkeit:

2. Ehrlichsches Hämatoxylin . . . 1
   Glycerin 1
   Chloralhydratlösung 1%ige . . . 6

übertragen, worin die Stücke 3—10 Tage verweilen. Die Stücke werden nun in Essigsäure-Glycerin eingelegt, worin

die Farbe differenciert wird und zwar so, dafs die Nerven und Nervenenden an den Muskeln und Gefäfsen intensiv tingiert werden, das Übrige hell erscheint. Aus der Farbe 2 kann man die Stückchen in reinem Glycerin aufheben und erst später mit Essigsäure (Lösung 1) behandeln. (95).

465. Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äufserst mühsame und unsichere.

466. Stöhr (94) empfiehlt folgende Methode: Eintauchen in eine Mischung von 8 Teilen Goldchlorürlösung zu 1% und 2 Teilen reiner Ameisensäure (die Mischung ist dreimal gekocht worden), 40—55 Minuten lang. Auswaschen in destilliertem Wasser. Übertragung in eine Mischung von reiner Ameisensäure, 10 Teile, und destilliertem Wasser, 40 Teile. Reduktion am Licht 36 Stunden lang. Einige Stunden in angesäuertem Glycerin.

Literatur zu Kap. 7: Ranvier (78 und 80).

8. Kapitel.

Rückenmark, Gehirn und Ganglien.

467. Beim Herausnehmen des Gehirns und Rückenmarks verfahre man so, dafs man zuerst Haut und Muskeln in den betreffenden Partien möglichst vollständig entfernt. Der Rückenmarkskanal wird dann mit einer Knochenzange eröffnet, die Schädelhöhle kann bei kleinen Tieren, z. B. manchen Fischen, Fröschen etc., mit dem Messer, bei jungen Meerschweinchen, Kaninchen der Hauptsache nach mit einer starken Pincette eröffnet werden; soweit dies möglich ist, gibt es meist bessere Resultate als wenn bei kleineren Tieren die Anwendung von Knochenzange oder Säge nötig wird. Ist das Gehirn resp. Rückenmark freigelegt, so geht der Herausnahme der Teile das Durchschneiden der zugehörigen Nerven voraus. In die Fixierungsflüssigkeit werden die Stücke auf Filtrierpapier- oder Wattebäusche eingelegt oder an einem weifsen Faden eingehängt. Die Untersuchung des Gehirns und Rückenmarks grosser Säugetiere, die man sich aus dem Schlachthaus verschaffe, geben auch noch, wenn sie erst einige Stunden nach dem Tode des Tieres eingelegt werden, wenigstens gute Orientierungsbilder. Geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind hierfür Kalium bichromicum, Müllersche Flüssigkeit, auch Alkohol, und bei frischen Präparaten Sublimat.

468. Um **Ganglienzellen** zu **isolieren**, hat man eine Reihe von Methoden. Einige der bewährtesten sind folgende:

469. Eine 1%ige Osmiumsäure oder 1/3 Alkohol (siehe § 300) wird in das Vorderhorn des Rückenmarks durch Einstechen injiziert, die so fixierte Stelle herausgeschnitten, gezupft und mit Glycerin eingeschlossen.

470. Kleinere Stücke aus den Vorderhörnern des Rückenmarks werden herausgeschnitten und maceriert. Dazu können folgende **Isolations-Flüssigkeiten** verwendet werden, in welche Stückchen bis zu 1/2 ccm eingelegt werden.

471. 1/3 Alkohol 1—2 Tage.

472. 1—0,5‰ige Chromsäure auf 3, 5 Tage und länger.

473. 1%ige Kalium bichromicum-Lösung 2 Wochen.

474. 1‰ige Osmiumsäure 24 Stunden und länger.

Durch Schütteln oder Zupfen lassen sich dann die Ganglienzellen leicht isolieren. Die Präparate werden in Wasser oder Glycerin untersucht, sie können vorher durch Zusatz zum Glycerin, von etwas Eosin z. B., gefärbt werden.

475. Zur Isolation der Ganglienzellen kann man auch Chlorwasserstoff-Salpetersäure (Königswasser) verwerten und die Zellen ertragen diese Behandlung verhältnismäfsig gut (v. Thanhoffer, 85).

476. Vorsichtig angefertigte Quetschpräparate der frischen grauen Substanz, namentlich der Vorderhörner (am besten zwischen zwei Objektträgern) liefern mitunter instruktive Präparate, welche aber nicht aufgehoben werden können; v. Thanhoffer, 85.

477. Streicht man graue Substanz der Vorderhörner in dünner Lage auf dem Objektträger oder Deckglas aus, läfst an der Luft trocknen und färbt dann mit Methylenblau (etwa 1%ige Lösung), zieht in Alkohol absolutus aus und überträgt in Xylol, Canadabalsam, so kann man bei einiger Übung brauchbare Dauerpräparate erhalten. Beim Ausziehen mufs der Zeitpunkt ausprobiert werden, zu welchem Ganglienzellen und namentlich deren Kernkörperchen intensiv gefärbt sind, während alles übrige fast farblos erscheint.

478. Zur Isolation kann man sich auch eines Wasserstroms bedienen. Dünne Scheiben von Rückenmark frisch oder kurze Zeit etwa mit schwacher Osmiumsäure behandelt, werden mit einem Strahl von Wasser intensiv abgespült; Gefäfse und Ganglienzellen pflegen dann in leidlichem Zustande übrig zu bleiben.

479. Gewisse Strukturen, auf die man bis jetzt nur wenig achtete, lassen sich relativ leicht in den Ganglienzellen darstellen. Nissl (95) und Flemming (95 b S. 380

Anm. 6.) An in Alkohol fixierten Präparaten, welche in Thionin gefärbt wurden, oder an in Sublimat behandelten mit nachträglicher Hämatoxylinfärbung sieht man »tingible Körper« in den Ganglienzellen deutlich abstechen.

Um die Zellenfortsätze und die Faserzüge innerhalb des Centralnervensystems darzustellen und namentlich die sogenannten hirschgeweihähnlichen Fortsätze der Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns ist die folgende alte **Methode von Gerlach** (71 und 72) noch immer zu empfehlen.

Die mit Kalium bichromicum oder Müllerscher Flüssigkeit fixierten Stücke werden senkrecht auf die Windungen geschnitten und die Schnitte mit einer sehr verdünnten ammoniakalischen Karminlösung (siehe § 221) längere Zeit gefärbt.

[480. Für Rückenmark leistet (Ganglien und Fasern) eine weitere Methode, die ebenfalls von Gerlach (71/72) herrührt, Hervorragendes. Rückenmark vom Kind wird in einer 1—2%igen, doppeltchromsauren Ammoniaklösung 2—3 Wochen lang fixiert, geschnitten und in eine Goldchloridkaliumlösung 1 auf 10,000, welche mit Salzsäure ganz schwach angesäuert ist, auf 10—12 Stunden gelegt. Es werden die Schnitte in $^1/_2$—$^1/_3$%iger Salzsäure gewaschen und kommen in 60%igen Alkohol mit 1%iger Salzsäurelösung auf 10 Minuten. Nachdem das Präparat durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Canadabalsam übergeführt ist, sieht man die Nerven erst blafs, nach einigen Stunden sehr deutlich. Solche Präparate, wenn sie recht gut gelungen sind, konkurrieren geradezu mit den Golgischen. Die Herstellung derselben ist aber bei weitem keine so sichere, und es dunkeln die Präparate oft in Canadabalsam so nach, dafs sie unbrauchbar werden.

481. Ströbe (93) empfiehlt zur Axencylinderfärbung im centralen und peripheren Nervensystem: 10 μ dicke Celloidinschnitte von in Müllerscher Flüssigkeit 4—5 Monate fixierten Präparaten werden in gesättigter wässeriger Anilinblaulösung 10 Minuten bis $^1/_2$ bis 1 Stunde gefärbt, Abspülen in Wasser, Differenzierung in Ätzkali-Alkohol (1 g Kali causticum in 100 ccm Alkohol 24 Stunden stehen, davon 20—30 Tropfen auf eine Schale Alkohol) bis sie hellbraunrot geworden sind (eine bis mehrere Minuten), destilliertes Wasser 5 Minuten (hier werden die Schnitte blau), Nachfärbung in konzentrierter wässriger Safraninlösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist, $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde lang. Alcohol absolutus, Xylol, Canadabalsam. — Resultat: Axencylinder blau, Markscheide farblos mit blauen *Pünktchen*, Schwannsche Scheide rot.

Für Färbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer in den Centralorganen hat Golgi folgende Methoden angegeben.

482. Sublimatmethode. Golgi (94) behandelt frische Stücke der Centralorgane von 1—2 cm Durchmesser 2—3 Wochen lang mit der Müllerschen Flüssigkeit oder mit doppeltchromsaurem Kalium allein, letzteres in von 3 auf 5 % ansteigender Lösung. Es kommen weiterhin die Stücke in eine 1/4- bis 1/2 %ige Sublimatlösung, die oft zu wechseln ist, auf 8—10 Tage und darüber. Sie können nun geschnitten, gut gewaschen und entweder in Glycerin oder Balsam aufbewahrt werden. Besonders günstig für diese Methode ist die Grofshirnrinde. Es sind jedoch die Resultate der Methode nicht konstant, es färben sich, wie auch bei den folgenden Golgischen Methoden, einmal Ganglienzellen, ein anderes Mal die Gliazellen und die Gefäfse. Das Gefärbte erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz.

483. Pal empfiehlt, um die Schnitte reiner zu erhalten, die Nachbehandlung derselben mit Natriumsulfid. Auch die Präparate, die statt mit Sublimat mit Silbernitrat behandelt worden sind, werden nach Pal mit Vorteil mit Natriumsulfid (1/2—1%) abgespült.

484. Cox (90 und 91) empfiehlt folgende Methode: Nicht zu grosse Stücke der nervösen Centren werden mit

5%ige Lösung von Kalium bichromicum	20 Teile
5%ige Lösung von Sublimat	20 »
Aqua destillata	30—40 »
8%ige Lösung von chromsaurem Kalium (von starkalkalischer Reaktion) . .	16 »

2—3 Monate lang im Winter und mindestens einen Monat im Sommer behandelt. Kürzere Behandlung mit Alkohol (Stunden). Bei jungen Tieren geht die Methode besser, wie bei erwachsenen (am besten beim einen Monat alten Kaninchen). — Färbt in erster Linie marklose Fasern.

485. Eine weitere Methode Golgis (94), bei welcher die Färbung auf Bildung **dichromsauren Silbers** beruht, besprechen wir eingehender, indem wir zunächst dem Autor selbst folgen:

Im Jahre 1875 gebrauchte Golgi seine Methode in folgender Weise: Er fixierte (Bulbus olfactorius) in Müllerscher Flüssigkeit, wobei er den Gehalt an chromsaurem Kali beim Wechseln der Flüssigkeit etwas erhöhte (bis 4 g). Die Fixierung dauerte im Sommer 5—6 Wochen, im Winter 3—4 Monate und darüber. Dann behandelte er Stücke der Objekte (nach 3 Monaten im Winter und nach 30—40 Tagen im Sommer)

alle 4—5 Tage probeweise mit Silbernitrat (von 1/2—1%). Im Sommer dauerte die Versilberung 24, im Winter 48 Stunden. Es ist aber ein längeres Verweilen in Silber zulässig. Diese Methode ist insoferne als eine kapriziöse zu bezeichnen, als man die Zeit des Verweilens der Stücke in der Müllerschen Flüssigkeit ganz genau abpassen muſs, da die Zeit der Einwirkung von der Temperatur in Abhängigkeit steht. Ist einmal die Silberreaktion eingetreten, so können die Stücke entweder in der Silberlösung selbst oder in Alkohol weiter aufbewahrt werden. Die Objekte werden schlieſslich in abs. Alkohol ausgewaschen, mit Kreosot aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Färbung geht in kurzer Zeit verloren.

Im Jahre 1885 hat Golgi Weiteres über seine Methode mitgeteilt, indem er für die Fixierung neben der Müllerschen Flüssigkeit auch das reine doppelt-chromsaure Kali empfahl. Es werden 1—1 1/2 ccm groſse Stücke des Hirns und Rückenmarks, am besten frisch getöteter Tiere verwendet (mitunter gelingt die Reaktion auch 24—48 Stunden nach dem Tode). Man fixiere in Kaliumbichromat in allmählich steigender Konzentration (von 2—5%) in nicht zu wenig Flüssigkeit und in gut verschlossenen Gefäſsen. Selbstverständlich muſs die Flüssigkeit oft erneuert und, um Schimmelbildung zu vermeiden, Kampher oder Salycilsäure zugefügt werden.

Es ist nun sehr schwer zu bestimmen, wann die Fixierung in Kaliumbichromat ihren für die spätere Einwirkung des Silbernitrat günstigsten Zeitpunkt erreicht hat, was von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit in Abhängigkeit steht. Man ist also auch hier auf das Ausprobieren angewiesen. Man kann etwa nach 6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Diese Versuche wiederhole man alle 8 Tage.

Auch hier ist die Silbernitratlösung 2/3%ig zu nehmen (etwa 1/2 Trinkglas auf 1 ccm Objekt). Zuerst entsteht ein üppiger Niederschlag. Die Silberlösung muſs dann gewechselt werden, eventuell nach einigen Stunden noch einmal. Nach 24 bis höchstens 48 Stunden ist die Behandlung gewöhnlich zu Ende, worauf die Schnitte sorgfältig mit absolutem Alkohol entwässert, in Kreosot aufgehellt und ohne Deckglas in Canadabalsam aufgehoben werden.

Heute sind vor allem zwei Modifikationen der Golgischen Methode gebräuchlich, welche als die langsame und die rasche bezeichnet werden.

Bei der langsamen Methode Golgis werden die Stücke zunächst mit einer von 3 auf 5% rasch ansteigenden Lösung von Kalium bichromicum, welches mehrmals gewechselt werden muſs, behandelt. Die Dauer der Fixierung hängt *von der* Temperatur und der Menge der Flüssigkeit ab.

Man ist daher auf Ausprobieren angewiesen. Man kann nach 4—6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Im letzteren Fall wiederhole man den Versuch alle 8 Tage. Die Stücke werden aus dem Kalium bichromicum in eine $^1/_2$- bis 1%ige salpetersaure Silberlösung übertragen, welche eventuell nach einigen Stunden noch einmal zu wechseln ist. Die Reaktion vollzieht sich meist in 20—30 Stunden. Dieses Verfahren gibt keine konstanten Resultate.

486. Rascheres Arbeiten gestattet folgende Methode Golgis (94). Die Stücke werden vorbehandelt in 8 Teilen einer 2%igen Kalium bichromicum-Lösung, gemischt mit einem Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung, und dann (schon nach 2—3 Tagen) in eine $^1/_2$- bis 1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen.

487. Ramon y Cajal (94b) hat letztere Methode folgendermafsen modifiziert. Die Stücke kommen auf 3 Tage in 3%ige Kalium bichromicum-Lösung, 4 Vol., 1%ige Osmiumsäurelösung, 1 Vol. und dann auf 1 bis 2 Tage in eine $^3/_4$%ige Silbernitratlösung; nur für sehr kleine Stücke, namentlich für Centralnervensystem von Embryonen, geeignet.

488. Gelingt die Golgische Methode nicht (dies gilt für alle Modifikationen), so kann man die Präparate in Kalium bichromicum-Osmiumsäure mit etwas schwächerem Osmiumsäuregehalt zurückbringen und nach 24 bis 48 Stunden abermals in Silber übertragen.

Zur Anwendung des Formols bei der Golgischen Methode verfährt Kopsch (96) folgendermafsen: Kurz vor dem Gebrauch werden zu 40 ccm einer 3,5%igen Kalium bichromat-Lösung 10 ccm Formol gegossen; hierein kommen die Organstückchen und zwar mehrere je auf 50 ccm Flüssigkeit bis zu 2 ccm Substanz. Bei grösseren Stücken ist die Flüssigkeit nach 12 Stunden zu wechseln. Nach 24 Stunden wird die Flüssigkeit durch 3,5%ige Kalium bichromat-Lösung (ohne Formolzusatz) ersetzt. Übertragen in 0,75%ige Silberlösung für Leber, Magen, Netzhaut schon am zweiten Tag, für letztere auch wie für Centralnervensystem nach 3—6 Tagen.

489. Es werden die Stücke in 40%igen und dann in absoluten Alkohol übertragen und geschnitten (die Paraffinmethode, in möglichst kurzer Zeit durchgeführt, ist nicht ausgeschlossen). Die Schnitte dürfen aber nicht mit einem

Deckglase bedeckt werden. Man überträgt sie deshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Canadabalsamlösung, welche nach und nach hart wird. Dieses Deckgläschen wird mit der Präparatseite nach unten in ein hölzernes Rähmchen oder in einen durchbohrten Objektträger eingesetzt und die Schnitte von der Seite des Deckglases untersucht.

Weniger empfiehlt sich ein Verfahren, das allerdings rascher zu arbeiten gestattet, nämlich die Schnitte auf den Objektträger ohne Deckglas in Canadabalsam einzuschliefsen. Einmal gestattet dies nur mit schwacher Vergröfserung zu untersuchen, und auch hierbei stört die nie vollständig glatt bleibende Oberfläche der Canadabalsamschicht.

490. E. Kallius (92) reduziert das chromsaure Silber direkt in metallisches durch den sog. »fünffachen Hydrochinonentwickler« (5 g Hydrochinon, 40 g Na. sulfurosum, 75 g Kalium carbonicum, 250 ccm Aq. dest.) Man nimmt von diesem Präparate 20 ccm auf 230 ccm dest. Wasser. (Diese Lösung hält sich wochenlang gut verschlossen im Dunkeln.) Mit dieser Lösung, welche vor dem Gebrauche mit $^1/_3$ bis höchstens $^1/_2$ des Vol. abs. Alkohol vermischt wird, werden die Schnitte mehrere Minuten in einem Uhrschälchen behandelt, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden. — Um zu kontrollieren, ob die Reduktion vollendet ist, lege man einen Schnitt in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Na., worin alles chromsaure Silber gelöst wird (das reduzierte metallische aber nicht). Um die grauschwarze Färbung der Schnitte zu entfernen, verfahre man also: Aus der Hydrochinonlösung kommen die Schnitte auf 10—15 Minuten in 70%igen Spiritus, dann auf 5 Minuten in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Natron und zuletzt in eine gröfsere Schale Aq. dest. auf längere Zeit bis 24 Stunden. Man darf die Schnitte dann entwässern und in Canadabalsam überführen, oder aber färben (Carmin, Hämatox., Naphthylaminbraun werden vorgeschlagen) und dann in Canadabalsam einschliefsen. — Die Behandlung der Schnitte mit Kalilauge oder mit salzsaurem Alkohol ist ebenfalls zulässig.

Für § 485—490 vergleiche auch Riese (91).

491. Ehrlichsche Methylenblaumethode: (Ehrlich 85, Arnstein 87, Dogiel 90) Methylenblau (siehe auch § 455) in physiologischer Kochsalzlösung (1 : 300) 3—5 ccm werden in eine Vene resp. in den Lymphsack eines Frosches ein*gespritzt.* (Beim Kaninchen wird z. B. in die Vena jugu-

laris ext. eingespritzt.) Nach ein paar Stunden werden Nerven, sympathische Ganglienzellen, Muskeln etc. untersucht. An der Luft wird die Farbe intensiver. Man sieht prächtig tingiert die Nervenausbreitung im Muskel, besonders deutlich die Spiralfasern der sympathischen Ganglienzellen, Nervenfibrillen, einzeln und verschmolzen im Axenraum der markhaltigen Fasern u. s. f.

Mit Methylenblau ist auch eine Färbung überlebender Gewebe möglich. Solche Präparate kann man wenigstens einige Zeit in Jod-Jodkalium (siehe dieses) oder in pikrinsaurem Ammoniak aufbewahren.

Auch die folgende Flüssigkeit wurde vor kurzem empfohlen. Konzentrierte pikrinsaure Ammoniaklösung in Wasser wird zur Hälfte mit Glycerin versetzt und dieses sehr allmählich den Präparaten zugesetzt (S. Mayer).

492. Dogiel benutzt eine 1‰ige Lösung von Methylenblau rectificat. in physiologischer Kochsalzlösung und verfährt z. B. mit dem Auge folgendermafsen. Dasselbe wird äquatorial halbiert, die Retina wird isoliert, auf einem Objektträger mit der Stäbchen-Zapfenschicht gegen denselben ausgebreitet, dann werden 1—2 Tropfen der Farblösung auf den Glaskörper gebracht und das Präparat mit einer Uhrschale bedeckt, um vor dem Trocknen zu schützen. Nach 2—3—4 Stunden erscheinen die Nerven gefärbt. Ist die maximale Färbung da, so wird konzentrierte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammoniak (allein oder mit Spuren von Osmiumsäure) zugesetzt. Einwirkung einen Tag. Es ändert sich die Farbe und dieselbe wird zugleich fixiert. Man entfernt dann die pikrinsaure Ammoniaklösung mit Filtrierpapier und bewahrt in Glycerin auf.

Meyer (95) empfiehlt eine subcutane Injektion einer 1%igen Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung z. B. 20 ccm einem jungen Kaninchen. Nach zwei Stunden wird die Injektion wiederholt. Nach weiteren zwei Stunden ist das Tier gewöhnlich todt. Man präpariert nun Centralnervenorgane heraus und fixiert kleine Stücke davon nach Bethe (siehe § 493).

493. Bethe (95) empfiehlt für die Methylenblaufixation bei Wirbeltieren folgendes Gemisch:

Ammoniummolybdat	1 g
Aqua destillata	10 ccm
Wasserstoffsuperoxyd	1 ccm
Acidum hydrochloricum offic.	1 Tropfen.

In dieser Fixierungsflüssigkeit, die möglichst kalt sein soll (+ 2° bis — 2°) bleiben die zu fixierenden Gewebsteile kleinere 2—3, grössere bis zur Ausdehnung von 1 ccm 4—5 Stunden, hernach noch einige Zeit bei Zimmertemperatur. Auswaschen mit Aqua dest. ½ bis 2 Stunden, entwässern mit (kaltem) Alkohol, Xylol. Durchtränkung mit Paraffin oder Celloidin. Nachfärbung mit Alaunkarmin und den Anilinfarben möglich. — Setzt man der Fixierungsflüssigkeit, in der das Präparat schon einige Zeit gelegen hat (fettreiche Gewebe ausgeschlossen) Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblauverbindung alkoholbeständiger und dunkler blau. Auch Nachbehandlung der Schnitte mit Osmiumsäure ist möglich.

494. Henle (71) -Merkelsche (77) Methode zur Darstellung der Nervenfasern im Centralnervensystem.

Stücke des Centralnervensystems werden in der gewöhnlichen Weise erst in Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 85), dann in Alkohol gehärtet, bis sie schnittfähig geworden sind. Die davon angefertigten Schnitte werden in Alkohol von ungefähr 94% eingelegt und können darin beliebig lang bleiben, jedenfalls aber müssen sie mindestens 10 Minuten in demselben verweilen. Dann wird der Schnitt herausgenommen, und man saugt mit Filtrierpapier oder einem Leinwandlappen den Alkohol rasch so weit auf, bis das Präparat beginnt trocken zu werden, und überträgt es in ein Schälchen mit Xylol. Hierin schwenkt man den Schnitt einige Augenblicke hin und her, bis er gleichmäfsiges Aussehen bekommen hat, und besieht ihn dann unter Xylol. Es ist nicht ratsam, die Untersuchung ohne Deckglas vorzunehmen, da sich das freiliegende Objekt durch die sehr rasche Verdunstung des Xylols bald verändert. An so behandelten Schnitten sieht man nur Axencylinder, eventuell auch Ganglienzellen glänzen, das Übrige, Kerne, Gefäfse u. s. w. ist fast unsichtbar. Der Grund dieses verschiedenen Aussehens ist darin zu suchen, dafs das Wasser, das sich noch im Alkohol befindet, von den Axencylindern und den Ganglienzellen hartnäckiger zurückgehalten wird, als von anderen Geweben. (Xylol mischt sich mit Wasser nicht.)

495. Zum Zwecke der Darstellung der markhaltigen Fasern im Centralnervensystem hat die **Weigertsche Säure-Fuchsin-Methode**, die nur mehr historisches Interesse hat, eine neue Epoche eröffnet.

Die Färbung der Zentralorgane mit saurem Fuchsin nach Weigert wird in folgender Weise ausgeführt. Schnitte, die nicht über 20 μ dick sein dürfen, kommen in eine gesättigte wässerige Lösung von saurem Fuchsin. Dann werden die Schnitte in einer grofsen Schale mit Wasser abgespült, und *man bringt* diese in eine dritte Schale, welche eine alkoholi-

sche Kaliumlösung enthält. Man bereite sich diese folgendermafsen: 100 ccm absoluten Alkohols werden mit 1 g Kalium causticum fusum versetzt; 10 ccm dieser Lösung werden nach 24 Stunden zu 100 ccm absoluten Alkohols hinzugefügt. In diese letztere Flüssigkeit kommen die Schnitte aus dem Wasser, ein Teil des Farbestoffes verläfst in Form von Wolken die Schnitte, und man wartet so lange, bis eine Differenzierung der grauen und weifsen Substanz erfolgt. (Die weifse Substanz erscheint röter wie die graue.) Nun bringt man die Schnitte in eine Schale mit reinem Wasser, welches vollkommen säurefrei sein mufs. Man wäscht noch einmal mit reinem Wasser ab und sieht zu, ob die graue Substanz heller ist als die weifse; ist das der Fall, so ist die Färbung gelungen; ist das aber nicht der Fall, so mufs man entweder das ganze Verfahren wiederholen oder den Schnitt in die Kaliumlösung zurückbringen und mit Wasser abspülen.

496. Die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylin-Methode bestand in folgendem: Schnitte in Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit fixierter (nicht mit Wasser ausgewaschener) Präparate, die braun, aber nicht grün sein dürfen (Celloidindurchtränkung) kommen in eine Hämatoxylinlösung

1 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol und
90 ccm Wasser

(vor dem Gebrauch mufs die Lösung einige Tage stehen bleiben) auf drei Stunden im Thermostat, welcher auf ca. 30 bis 45° C erwärmt ist; entsprechend länger (1—2 Tage) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die schwarz gewordenen Schnitte werden oberflächlich mit destilliertem Wasser abgespült und in

Borax . . . . . 2 g
Ferridcyankalium . $2^1/_2$ g und
Wasser . . . . . 100 g übertragen.

In dieser Flüssigkeit vollzieht sich die gewünschte Differenzierung, und zwar in der Weise, dafs die graue Substanz gelb wird und die weifse dunkel bleibt. Unter Umständen erreicht man diese Differenzierung erst nach Stunden. Sämtliche Markscheiden erscheinen alsdann schwarz, die übrigen Elemente gelb bis bräunlich.

497. Ferner erwähnen wir folgende von Weigert angegebene Methode: Die (Fixierung wie in § 496) mit Celloidin durchtränkten und auf Kork resp. Holz befestigten Stücke (siehe § 134) kommen in eine neutrale essigsaure Kupferoxydlösung (eine gesättigte Lösung des Salzes wird mit gleichem Volumen Wasser verdünnt) in einen Thermostat auf ein- bis zweimal 24 Stunden; die Stücke sehen nun dunkelgrün aus und der Celloidinmantel hellgrün. Nach dieser Prozedur können die

Schnitte in 80%igem Spiritus bis zum Schneiden aufbewahrt werden. Sind die Schnitte angefertigt, so kommen sie in folgende Hämatoxylinlösung (Weigertsches Hämatoxylin):

1 g Hämatoxylin,
10 ccm absoluter Alkohol,
90 ccm Wasser und
1 ccm gesättigtes Lithium carbonicum in Wasser.

Vor dem Gebrauche wird der Farbe Essigsäure (einen Tropfen auf ein Uhrschälchen) zugesetzt.

In dieser Flüssigkeit verbleiben die Schnitte je nach dem Objekt 2—24 Stunden (bei schwer sich färbenden Objekten auch im Thermostat bei 40° C.) und kommen dann in die Differenzierungsflüssigkeit, welche dieselbe wie bei der eben erwähnten Weigertschen Hämatoxylin-Methode geblieben ist, d. h.

2 g Borax,
2½ g Ferridcyankalium auf
100 ccm Wasser.

Der Prozefs der Differenzierung dauert lange, mitunter Tage, und darf nicht eher unterbrochen werden, bis die weifse Substanz dunkel und die graue hell geworden ist.

498. Eine weitere Methode **Weigerts** (91) ist die folgende: Die (Fixierung wie in § 496) mit Celloidin durchtränkten und auf Kork resp. Holz befestigten Stücke (siehe § 134) kommen auf 24 Stunden in den Brütofen, auf folgender Lösung schwimmend:

Cupr. acet. neutrale (kalt gesättigte wässerige Lösung)
Tartarus natronatus = Seignettesalz (10%ige wässerige Lösung)
} zu gleichen Teilen

Gröfsere Stücke (z. B. Pons Varoli des Menschen) können länger darauf bleiben, (höchstens) 48 Stunden, mit Erneuerung der Lösung nach 24 Stunden. (Hohe Temperatur zu vermeiden; Brüchigkeit.) Sodann noch einmal 24 Stunden in Brütofen schwimmend auf — wässeriger Lösung von Cupr. acet. neutrale. Die Lösung (kalt gesättigt) kann mit Wasser (dest.) ½ verdünnt sein oder nicht. — Dann flüchtiges Abspülen der Stücke mit dest. Wasser. — 80% Spirit. Schon nach ½ bis 1 Stunde sind die Stücke schneidbar, können aber auch beliebig lange darin bleiben. — Färbung der Schnitte:

A { Lithion carb. gesätt. wässerige Lösung 7 ccm,
aqua dest. . . . . 93 »

B { Hämatox. . . . . 1 g,
Alkohol . . . . . 10 ccm.

Beide Lösungen kann man vorräthig halten, doch lasse man die Lithionlösung nicht zu alt werden. — Sie werden vor dem Gebrauche unmittelbar gemischt: A 9 Teile + B 1 Teil (nicht zu wenig Flüssigkeit!).

Nach 4—5 Stunden bei Zimmertemperatur sind die Schnitte vollkommen gefärbt, doch kann man sie auch 24 Stunden in der Farbe lassen. — Abspülen im Wasser. (Ohne Differenzierung (wie § 497) kann man nur lose Schnitte färben, keine Celloidinserien, und die Schnitte dürfen nicht dicker sein als 1/40 mm).

Dann kommen die Schnitte in 90% Alkohol, dann entweder auf kurze Zeit in Carbolxylol oder besser in Anilinölxylol: Anilinöl 2 + Xylol 1. Dann Xylol und schliefslich Xylolbalsam (in Chloroformbalsam bleicht die Farbe ab). — Nach Anilinölxylol mufs sorgfältig in reinem Xylol gewaschen werden, sonst bleichen die Schnitte ebenfalls.

Resultat: Markhaltige Fasern dunkelblau bis schwarz auf hellem Grunde. Dieser färbt sich bald hellrosa. Das Randcelloidin wird manchmal hellblau.

Will man auch diese Färbung des Randcelloidins entfernen, so nimmt man statt des zweiten Auswaschwassers eine 1/5 bis 1/2%ige Essigsäure. (Dann Wasser, Alkohol). Bei zarten Präparaten (z. B. Grofshirnrinde) ist die Essigsäurebehandlung zu vermeiden.

499. Die **Palsche** (86) **Methode** (die Färbung ist sehr präcis aber nicht so intensiv wie bei der Weigertschen Methode und deshalb ist sie namentlich für dicke Schnitte zu empfehlen), ist nichts anderes als eine modifizierte Weigertsche. Die Fixierung ist wie bei der eben erwähnten Methode; die Schnitte kommen entweder gleich in Hämatoxylin oder, wenn sie nicht genügend braun sind, den Stich ins Grüne zeigen, auf einige Stunden in 1/2%ige Chromsäure- resp. in eine 2- bis 3%ige Kalium bichromicum-Lösung. Es werden nun die Schnitte in eine der folgenden Hämatoxylin-Lösungen übertragen, entweder Weigertsches Hämatoxylin (siehe § 497) oder

0,75 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol,
90 ccm Wasser, unter Erwärmen lösen, und
2 ccm einer gesättigten wässerigen Lithiumcarbonicum-Lösung hinzufügen. Nach mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur überträgt man die Schnitte in 1/4%ige

wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung, die frisch bereitet werden mufs, auf 20 bis 30 Sekunden, und darauf in

Oxalsäure 1
Kalium sulfurosum 1 und
Wasser 200,

in welcher Flüssigkeit sich die Differenzierung vollzieht, in der Weise, dafs makroskopisch die graue Substanz farblos und die weifse dunkel erscheint; sämtliche Markscheiden sind alsdann dunkelblau, alles übrige farblos. Ein Nachfärben mit anderen Farben, wie z. B. mit Eosin, Alaunkarmin u. s. w. ist nicht ausgeschlossen.

Auch folgender Weg führt zum Ziele:

Die Schnitte werden mit Erlickischer Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden bei einer Temperatur von 40 bis 50° behandelt, sie bleiben nach einem ganz oberflächlichen Abspülen mit Wasser in

Hämatoxylin 1 g
Alkohol abs. 10 g und
Wasser 90 ccm,

ebenfalls 2 bis 3 Stunden in der oben angegebenen Temperatur; dann werden sie mit unterchlorigsaurem Natron (einige Tropfen einer Lösung mit 2%igem Chlorgehalt auf eine Uhrschale mit Wasser) behandelt, in welcher Flüssigkeit sich direkt die Differenzierung unter den Augen des Beobachters in kurzer Zeit vollzieht, in der Weise, dafs die Markscheiden gefärbt bleiben und alles ...brige entfärbt wird. Auch verdünnte Aqua Javelli kann als differenzierende Flüssigkeit analog angewandt werden.

Hat man nach irgend einer der citierten Methoden die Differenzierung der grauen und weifsen Masse erlangt, so werden die Schnitte sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült, entwässert und eingeschlossen.

Die letzt vorgetragene Methode hat Heilmeyer für die Darstellung der Gallenkapillaren in der Leber vorgeschlagen.

500. Wie Weigert (95 und 94) nachgewiesen hat, ist seine Färbung auch nach Fixation (in Müller, Marchi) in Formol möglich.

Einbetten in Celloidin.

Schneiden (nicht kupfern!)

Chromsäure 1% erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen, vorher gut ausbreiten.

Abspülen in Wasser.

Färbung in Weigertschem Hämatoxylin unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

Wasser. — Differenzierung nach Pal. Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak (wenn braun) oder Lithion (wenn blau) zugesetzt sind.

Einschliefsen. Dieses Vorgehen ist ein viel kürzeres, als das früher von Weigert angegebene, führt also rascher zum Ziel.

501. Noch einfacher scheint folgende Markmethode, welche durch Kultschitzky (90) angegeben wurde, zu sein:

Objekte aus Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit werden mit Celloidin durchtränkt, geschnitten und die Schnitte in die Hämatoxylinlösung übertragen.

1 g Hämatoxylin wird in ein paar ccm Alkohol vollkommen gelöst und zu 100 ccm einer 20%igen Borsäurelösung hinzugefügt. Diese Hämatoxylinlösung wird vor dem Gebrauch mit 2—3 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen angesäuert. Oder noch einfacher:

Man löse 1 g Hämatoxylin in ein paar ccm Alkohol und füge hinzu 100 ccm einer 2%igen wässerigen Essigsäurelösung.

Es erscheinen nach 24 Stunden sämtliche Markscheiden dunkelblau, alles Übrige fast ungefärbt mit einem Stich ins Rötliche. Das nachträgliche Behandeln mit der Weigertschen Differenzierungsflüssigkeit (§ 497) führt jedoch sicherer zum Ziele.

502. Nach Kultschitzky (87b) und Wolters (90) geben wir folgende Methode zur Mark- und Axencylinderfärbung an:

a) Kultschitzky; In 50%igen Alkohol bringt man ad libitum feingestofsenes doppelchromsaures Kalium und schwefelsaures Kupferoxyd. Nach 24 Stunden löst sich ein Teil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf. Vor dem Gebrauch wird diese Flüssigkeit mit Essigsäure, 5—6 Tropfen auf 100 ccm, angesäuert. — Je nach der Gröfse werden die Objekte 12 bis 24 Stunden im Dunkeln fixiert und dann in starken Alkohol übertragen. Nach abermals 12—24 Stunden können dieselben geschnitten werden.

b) Wolters: Die mit der Kultschitzkyschen Flüssigkeit fixierten Stücke werden in Celloidin möglichst dünn geschnitten (5—10 μ) und dann auf 24 Stunden in folgende Beize übertragen:

10%iges Vanadium chloratum . . . . 2 Teile
8%iges Aluminium aceticum liquidum . 8 »

Nach kurzem (10 Minuten) Abwaschen mit Wasser kommen die Schnitte in die Hämatoxylinlösung von Kultschitzky

Hämatoxylin 2,0 (alkoholische Lösung),
2%ige Essigsäure — 100,
eventuell ein Paar Tropfen Osmiumsäure (Kaes 91).

auf 24 Stunden (bei 30°) und werden dann in 80%igem salzsäurehaltigem Alkohol entfärbt, bis die Schnitte einen hellen blauroten Ton zeigen. Übung beim Entfärben ist erforderlich.

503. Flechsig (76) hat darauf aufmerksam gemacht, dafs bei Embryonen, Föten und jungen Tieren bestimmte Bahnen später als andere markhaltig werden, und darauf eine Methode für das Studium des Faserverlaufs im Centralnervensystem gegründet.

504. Um Bindegewebszellen der zentralen Nervenorgane an in Alkohol fixierten Objekten sichtbar zu machen, sind die folgenden Methoden zu berücksichtigen: man fixiere Rückenmark- resp. Gehirnstücke in 96–98%igem Alkohol; die Fixierung dauert je nach der Gröfse des Stückes verschieden lang; für 1 cm grofse Stücke genügen schon zwei Tage. Mit Celloidin durchtränkte Schnitte von nicht über 20 μ Dicke kommen aus dem Spiritus auf $^1/_2$—1 Minute in eine 0,1%ige Methylenblaulösung in Wasser. Darauf wird der Schnitt in absolutem Alkohol (in 2 Schalen hintereinander) kurze Zeit (Minuten) gewaschen und in Origanumöl, worin die Differenzierung stattfinden soll, übertragen. Die Nervenzellen erscheinen intensiver gefärbt, wie die Bindegewebszellen (grünlich) — Färbt man, wie oben angegeben, die Schnitte $^1/_2$ Minute mit Methylenblau, wäscht mit Alkohol und überträgt in eine schwache Magenta-(Diamant-Fuchsin)-Lösung (0,1 Magenta, 100 ccm von 96%igem Spiritus) auf eine $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, und wäscht darauf 1 Minute in Alkohol wieder und überträgt auf kurze Zeit in Nelkenöl und aus diesem in Canadabalsam. so erscheinen die Nervenzellen blaurötlich mit ungefärbten Kernen und blauen Kernkörperchen, die Kerne des Bindegewebes und der Gefäfse sind rot. Vor dem Einschliefsen betrachte man die gefärbten Schnitte mit schwacher Vergröfserung in Nelkenöl und sehe zu, ob die Färbung gelungen ist. Ist zu viel Rot oder zu viel Blau, so kann man die Färbung korrigieren, indem man im ersteren Falle mit Nelkenöl, im zweiten mit Origanumöl auszieht: Nelkenöl löst nämlich Fuchsin, Origanumöl Methylenblau, nicht aber umgekehrt.

(Nissl-Rehm, siehe Rehm, 92).

505. Um in in Alkohol fixierten Präparaten Axencylinder und Nervenzellen darzustellen, empfiehlt Rehm folgende Methode:

Schnitte kommen auf 2mal 24 Stunden in $^1/_2$%ige wässerige Hämatoxylinlösung und werden dann mit Wasser, dem auf 100 ccm 1 ccm einer gesättigten wässerigen Lösung Lithion carbonicum zugesetzt ist, gewaschen, bis kein Farbstoff mehr ausgezogen wird, weitere Behandlung: Alkohol etc. Die Axencylinder sind grauschwarz, die Nervenzellen-Fortsätze ebenfalls.

506. Färbemethode nach Marchi (85).

1. Müllersche Flüssigkeit 8 Tage. 2. Möglichst kleine Stücke kommen ohne Auswaschen in: Müllersche Flüssigkeit 2 + Osmiumsäure 1 % 1 Teil 5 — 8 Tage. 3. Auswaschen (einige Tage). 4. Celloidin etc.

Die degenerierenden (nicht die degenerierten) Fasern werden schwarz, alles Andere leicht gelb.

507. Weigerts (95) Neurogliafärbung:

1. Fixierung (und Beizung).

Diese beiden Prozeduren kann man getrennt oder vereint vornehmen. Man trennt sie, wenn man die Präparate auch nach anderen Methoden, z. B. der Marchischen, Golgi-, Nifsl- oder Markscheiden-Methode behandeln will. In diesem Fall Fixation mit Formol 1 : 10. Stücke nicht über einen halben Centimeter dick! Material möglichst frisch. Grofse Schalen mit Fliefspapier belegt. Die Flüssigkeit ist nach dem 1. Tage zu wechseln, etwa 4 Tage genügen zur Fixierung. Die so fixierten Stücke können jahrelang ohne Nachteil für die Neurogliafärbung aufbewahrt werden.

2. Beizung: (siehe Merkel-Bonnet, Ergebnisse. 1894). Besonders zu empfehlen ist:

5 % essigsaures Kupferoxyd,
5 % gewöhnliche Essigsäure,
2½ % Chromalaun in Wasser.

Hierbei ist zu beachten: der Chromalaun wird zuerst in Wasser gekocht, dann werden die beiden anderen Komponenten zugesetzt, und zwar zuerst die Essigsäure und dann das feingepulverte neutrale essigsaure Kupferoxyd. Man rührt gehörig um und läfst erkalten. In diese Lösung, welche auch für Markscheidenfärbung zu empfehlen ist, kommen die in Formol fixierten Stücke auf 4—5 Tage bei Brutofentemperatur oder bei Zimmertemperatur etwa 8 Tage. Will man nur die Neuroglia gefärbt erhalten, so ist es besser, die frischen, nicht über ½ cm dicken Stücke mit Umgehung des einfachen Formols direkt in jene Kupferchromalaunlösung zu bringen, der man dann 10 % Formol zusetzen mufs. Wechseln der Flüssigkeit! Verweilen mindestens 8 Tage in der Flüssigkeit bei Zimmertemperatur.

Zum Schneiden werden die Stücke mit Wasser abgespült, in Alkohol entwässert und mit Celloidin durchtränkt.

Die Schnitte kommen auf etwa 10 Minuten in eine ⅓ %ige Lösung von Kalium hypermanganicum, dann Auswaschen durch Aufgiefsen von Wasser, dann Verbringen

der Schnitte in die Reduktionsflüssigkeit (5 % Chromogen und 5 % Ameisensäure [spez. Gewicht 1,20] in Wasser). Man filtriert sorgfältig. Vor dem Gebrauch setzt man zu 90 ccm dieser Flüssigkeit 10 ccm einer 10%igen Lösung von Natriumsulfit (einfach schwefligsaures Natron). Schon nach wenigen Minuten sind die durch Kalium hyperm. gebräunten Schnitte entfärbt, aber man läfst sie zweckmäfsiger noch 2 — 4 Stunden in der Lösung. Will man das Bindegewebe farblos, so kann man jetzt die Vorbereitungen für die Färbung abschliefsen; wenn nicht, und man will das Bindegewebe tingiert und das nervöse in der Kontrastfarbe, so bringe man die Schnitte nach dem Abgiefsen der Reduktionsflüssigkeit und nach zweimaligem Aufgiefsen von Wasser in eine einfache, gesättigte, wässerige Chromogenlösung (5 % Chromogen in Aqua destillata). Man filtriere sorgfältig! In dieser Lösung bleiben die Schnitte über Nacht, je länger, desto intensiver die Kontrastfärbung des Nervensystems, dann giefst man wieder zweimal Wasser auf, und nun sind die Schnitte fertig zur Färbung.

3. Färbung; dieselbe ist eine modifizierte Fibrinfärbung, s. § 348. Die Jodjodkaliumlösung ist unverändert (gesättigte Lösung von Jod in 5%iger Jodkaliumlösung).

Statt der üblichen Gentianaviolettlösung benutzt man eine heifsgesättigte und nach dem Erkalten von dem Bodensatz abgegossene alkoholische Lösung (70—80% Alkohol) von Methylviolett. Dieser Lösung setzt man auf je 100 ccm 5 ccm einer 5%igen wässerigen Oxalsäurelösung zu. Die Anilinölxylollösung ist nicht im Verhältnis von 2 Anilinöl : 1 Xylol, sondern 1 : 1. Im übrigen ist die Färbung wie bei der Fibrinmethode, die Reaktionen gehen äufserst rasch vor sich. Schnittdicke nicht über 20 μ.

Weitere Literatur für Kapitel 8: Dejerine (95), Lenhossék (95), Obersteiner (95), Weigert (94 und 95).

9. Kapitel.

Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle.

508. Um die Anordnung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Gewebsteile, welche die Herzwand zusammensetzen, kennen zu lernen, ist es nötig, Schnitte durch die Herzwand anzufertigen, die man in beliebiger Weise (Müllersche Lösung, Chromsäure. Alkohol etc.) fixiert

und weiter behandelt hat. Für die Isolation von Zellen der Purkinjeschen Fäden, glatten und Herzmuskelzellen verfahre man nach § 435 ff.

509. Das Endo- und Perikard können (siehe § 308) versilbert, mit der Pincette abgezogen (oder durch Flächenschnitt mit dem Rasiermesser als dünne Lamelle abgetragen) und in Glycerin eingeschlossen werden.

510. Gröfste und grofse Gefäfse fixiere man beliebig und schneide sie in Celloidin. Färbung beliebig, für elastische Fasern mit der Orcëinmethode (siehe § 675).

511. Die Media dieser Gefäfse wird mit Kali- (Natron) lauge, 1/3 Alkohol (24 Stunden und länger) oder einer 1%igen Weinsäure einige Stunden behandelt; es lassen sich nach dieser Vorbehandlung **elastische** Elemente — **Platten, Netze und Fasern** durch sorgfältiges Spalten und Zupfen stellenweise isolieren.

512. Mittlere Arterien und Venen werden geschnitten und mit Pikrokarmin (siehe § 255) z. B. tingiert (Muscularis).

513. Feine Querschnitte durch getrocknete Gefäfse werden auf 24 Stunden in eine verdünnte Böhmersche Hämatoxylinlösung gebracht, daraufhin auf einige Minuten in Essigsäure und dann ebenso lange in eine schwache Pikrinsäure. Die Schnitte werden ausgewaschen und entweder in Glycerin oder Canadabalsam aufbewahrt. Die Muskeln erscheinen violett, das Bindegewebe rotbraun und das elastische Gewebe gelb (Gerlach, 72).

514. Kleine und kleinste Gefäfse (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelementen bestehenden] Muskulatur, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man sehr bequem an Zupfpräparaten der weifsen resp. grauen Substanz des Centralnervensystems, wo sie als willkommene Nebenprodukte erscheinen. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen werden.

515. Man kann die Kapillaren und allenfalls kleine Arterien und Venen, an etwas nachgedunkelten versilberten (siehe § 308) dünnen Lamellen, die mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sicherere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem

durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten liefs, eine dünne (1%ige) Silbernitratlösung in die Gefäfse einspritzt, bis das ganze Gefäfssystem gefüllt ist (Frosch 10 bis 15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol fixiert und eingeschlossen werden; solche Präparate zeigen aufser den Endothelgrenzen die Grenzen der glatten Muskeln.

516. Nicht injizierte Kapillaren kollabieren in dem Mafse, dafs man sie als solche nicht mehr in Schnitten alle erkennen kann. Um die Verbreitung derselben zur Anschauung zu bringen, **injiziert** man **die Gefäfse.**

Die Injektionstechnik ist zu einem besondern umfangreichen Zweige der mikroskopischen Technik herangewachsen. Wir müssen deshalb von der Schilderung der Injektionsapparate, Technik des Einführens und Befestigens der Kanüle etc. absehen und begnügen uns mit der Angabe zweier wohlerprobter Injektionsmassen: einer roten und einer blauen.

517. Es ist dies zunächst die Gelatine-Karminlösung. Sie wird folgendermafsen hergestellt: Man bereite sich einen Karminbrei (etwa 4 g Karmin und 8 ccm Wasser). Zu diesem Karminbrei gieſse man soviel Ammoniak hinzu, wie nötig ist, um den Karmin in Lösung zu bringen, was daran zu erkennen ist, dafs das Ganze lackfarben wird. Anderseits lege man etwa 50 g Gelatine in destilliertes Wasser und lasse sie darin etwa 24 Stunden aufquellen. Ist die Gelatine aufgequollen, so erwärme man dieselbe, nachdem man das Wasser mit den Händen ausgepreſst hat, auf dem Wasserbade auf etwa 60° C. und sorge dafür, dafs die Gelatine nicht überwärmt werde; ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem Karminbrei hinzu, als nötig ist, um eine bestimmte Farbenintensität zu erzielen. Man mische sorgfältig mit einem Glasstabe, bis sich der Karmin gleichmäfsig in der Gelatinemasse verteilt hat. Nun tröpfle man in diese Lösung eine etwa 25%ige Essigsäurelösung unter beständigem Umrühren hinzu, bis die dunkel-kirschrote Lackfarbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Ist das der Fall, so ist die Masse neutral, und man filtriere sie durch Flanell.

Die Masse wird in warmem Zustande einem vorher auf 37—38° C. in warmem Wasser gewärmten, durch Massieren vor Einbinden der Kanüle möglichst blutleer gemachten

Tiere injiziert (bei Amphibien genügen schon ca. 30° C.). Die so injizierten Stücke werden in Spiritus fixiert.

Will man ganze Tiere injizieren, so empfiehlt es sich, die Kanüle der Spritze durch das linke Herz in die Aorta einzuführen und so einzubinden, dafs ein Ausflufs der zurückfliefsenden Masse durch das rechte Herz möglich ist. Man injiziere langsam unter sehr mäfsigem Druck.

518. Das im Wasser lösliche **Berlinerblau**, Ranvier (89), in einer im Wasser gesättigten Lösung zu der wie in § 517 hergestellten Gelatine in der Wärme hinzugesetzt, liefert eine blaue Injektionsmasse. Hat man kein lösliches Berlinerblau, so kann man es sich in folgender Weise beschaffen (nach Ranvier). Man gieſse gelbes Blutlaugensalz und Ferrosulfat in bestimmten Proportionen zusammen, es bildet sich ein blauer Niederschlag von unlöslichem Berlinerblau. Man filtriere die Flüssigkeit, und die blaue Masse bleibt selbstverständlich auf dem Filter. Nun wasche man die auf dem Filter gebliebene Masse mit Wasser, bis das Filtrat blau gefärbt erscheint. (Es dauert unter Umständen 24 Stunden und länger.) Das unlösliche Berlinerblau ist nun löslich geworden und die auf dem Filter gebliebene breiige Masse kann getrocknet und als lösliches Berlinerblau benutzt werden.

Die mit Berlinerblau injizierten Stücke lassen ein nachheriges Fixieren mit Chromsäure und chromsauren Salzen zu.

Fertige Injektionsmassen sind durch Grübler zu beziehen.

519. Es ist vor Jahren von Altmann (79) ein Verfahren vorgeschlagen worden, das im folgenden besteht:

Man injiziert Gefäfse (z. B. der Niere, Iris, Chorioidea, Haut, Retina) etwa mit Olivenöl; so injizierte Organe werden mit Osmiumsäure (siehe § 91) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäfse schwarz färben. Die nicht durchsichtigen massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1% auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäfse schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäfse) sind sehr widerstandsfähig geworden, und man kann allerdings mit grofser Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit aqua Javelli behandeln, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise ist man im stande, reine mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäfse und Kapillaren zu erhalten.

Solche Präparate können auch durch Wasser in Glycerin oder durch Alkohol in Canadabalsam übergeführt werden. Diese Prozedur erfordert aber eine besondere Sorgfalt, da die Präparate ungemein brüchig werden.

520. Eine andere Methode, die sogenannte Fettimprägnation der Lymphwege, ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zweck entweder:

1. Olivenöl 1 Volumen,
   Alkohol abs. ½ »
   Schwefeläther ½ »

das Ganze mufs klar aussehen, oder

2. Ricinusöl 2 Volumina,
   Alkohol abs. 1 Volumen.

Man lege frische Gewebstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung von 1 oder 2. Nach 5 bis 8 Tagen kommen die betreffenden Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 direkt auf einige Stunden in Wasser, wobei die äufserlich anhaftenden Fetteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Gewebsstücke auf 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäure, und können wie bei den Gefäfsen, entweder direkt mit aqua Javelli korrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die Korrosion möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

521. Um Lymphkapillaren resp. Lymphspalten zu injizieren, ist die Methode der Injektion durch Einstich eingeführt worden, die entweder mit Berlinerblau (siehe § 518) geübt wird, oder mit wässeriger Silbernitratlösung 1 : 1000 oder aber mit Silbernitrat, gelöst in Gelatine (¼ auf 100). (Ranvier, 89.) Man lege Gelatine auf 12 Stunden in eine reichliche Wassermenge, presse dann dieselbe mit den Händen möglichst gut aus und verflüssige dieselbe durch Erwärmen, dann erfolgt der Silbernitratzusatz.

10. Kapitel.

Lymphdrüsen und Milz.

522. Für die grobe Orientierung über den Bau der Lymphdrüsen genügen Schnitte durch kleinere Drüsen, die dem Mesenterium einer Katze etwa, entnommen und mit Alkohol, Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure fixiert worden sind.

An Schnitten, die mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt worden sind, kann man sich bequem über die Verbreitung der Mark- und Rindensubstanz orientieren, die Trabekel *und die Kapsel* erscheinen in der Eosinfarbe.

Um das Endothel der Trabekel zur Darstellung zu bringen, spritze man von einem vas afferens aus oder einfacher durch Einstich in die Lymphdrüse eine schwache $^1/_{10}$ %ige Silbernitratlösung ein. Nach einer halben Stunde wird die Drüse in Alkohol fixiert. Schnitte, die nicht unter 15 μ dünn sein dürfen, zeigen die bekannte Endothelzeichnung auf den Trabekeln.

523. Für das Studium der Keimcentren Flemmings empfehlen sich neben den Lymphdrüsen selbst die solitären Follikel des Darmes, sie werden vorher mit Flemmingscher Lösung, aber auch mit Pikrinsäure etc. fixiert und mit Safranin gefärbt.

524. Das adenoide Gewebe ist an intakten Schnittpräparaten nur wenig oder gar nicht wahrzunehmen, an sehr dünnen Schnitten (1—3 μ) ist dasselbe sehr gut zu sehen. An gewöhnlichen Schnitten kommt es erst dann zu Gesicht, wenn man die Zellen auf irgend eine Weise entfernt.

Schnitte durch Lymphdrüsen, die entweder frisch oder mittels eines Gefriermikrotoms angefertigt worden sind, werden auf einem Objektträger mit wenig Flüssigkeit ausgebreitet und mit einem feinen Malerpinsel betupft; die Leukocyten bleiben am Pinsel zum Teil hängen und man kann das Präparat nachträglich etwa mit Hämatoxylin, färben, wobei sich die adenoiden Netze blau tingieren. Pinselmethode. (His [61].)

Aber auch an zuvor fixierten Präparaten, die geschnitten worden sind und einige Zeit im Wasser gelegen haben, kann man das Pinseln sowohl, wie die nächstfolgende Methode üben; sie ist ebenfalls von His angegeben und besteht darin, dafs man Schnitte in einem zur Hälfte mit Wasser gefüllten Probiergläschen einige Zeit schüttelt. Setzten wir zum Wasser Froschgalle zu, so schien es uns, als ob wir in kürzerer Zeit bessere Resultate erzielten; es ist nicht unmöglich, dafs ein Teil der in den Maschen des Retikulums gelegenen Elemente sich in der Galle löst. Bei dieser Prozedur werden die meisten Leukocyten entfernt, und wenn man nun die Schnitte ausbreitet und färbt, so sieht man deutlich das retikuläre Bindegewebe.

525. Auch durch Verdauen der Schnitte mit Trypsin kann man das retikuläre Bindegewebe darstellen (s. § 362).

526. Retikuliertes Gewebe (nicht leimgebend) kommt nach Mall (91) in Lymphdrüsen, Milz, Schleimhäuten, Leber,

Niere, Lunge vor und wird dargestellt, indem man in Pankreatin verdaute Schnitte mit Wasser ausschüttelt, auf einem Objektglas ausbreitet und eintrocknen läfst. Dann wird dasselbe mit einem Tropfen der Lösung befeuchtet: Pikrinsäure 10 g, absoluter Alkohol 150 ccm, Wasser 300 ccm. Dies läfst man wiederum eintrocknen, worauf man den Schnitt mit einigen Tropfen Säurefuchsin bedeckt und etwa eine halbe Stunde stehen läfst. (Säurefuchsin 10 g, absoluter Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm.) Das überschüssige Fuchsin wird dann abgegossen, der Objektträger für sehr kurze Zeit in die Pikrinsäurelösung gebracht und dann in absoluten Alkohol übertragen. Xylol, Canadabalsam (ist im wesentlichen Altmanns Granulamethode siehe § 294).

527. Bilder, welche sich zum Teil von denen unterscheiden, welche die eben beschriebene Methode liefert, erhält man bei Anwendung der in § 571 beschriebenen Silbermethode auf in Alkohol fixierte Stücke von Milz und Lymphdrüse. Vor Anwendung der Methode schneide man von den Stücken die Kapsel weg. In der Milz färben sich Fasern in der Pulpa, Fasern im Malpighischen Körperchen und eine besondere auch die Gefäfse überkleidende Rindenschicht des Malpighischen Körperchens. Oppel (91).

528. Für die Untersuchung der Zellen würde man die verschiedenen Färbungen anzuwenden haben, die bei der Untersuchung der Lymphe (siehe § 315 ff.) verwandt werden, auf Schnitten, oder indem man durch Abschaben einer frischen Schnittfläche sich Material verschafft, welches man ganz in der Weise, wie es bei der Lymphe gesagt worden ist, behandelt.

529. Die Methode der Untersuchung der Milz ist ganz dieselbe, wie die der Lymphdrüsen.

Die Injektion der Milzgefäfse gehört zu den schwierigsten Problemen der Injektionstechnik, was durch eigentümliche Blutcirkulationsverhältnisse der Milz bedingt ist.

11. Kapitel.

Darm und Drüsen.

530. Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Alkohol, Chromsäure, Flemmingscher Lösung und bietet an mit Karmin u. s. w. gefärbten Präparaten ganz instruktive Orientierungsbilder.

Faſst man Spezielles ins Auge, will man beispielsweise das Epithel oder die Drüsen u. s. w. eingehender untersuchen, so würde man dementsprechend die Methoden zu modifizieren haben.

531. Papilla circumvallata und foliata (sehr selten fungiformis) sind Träger von **Geschmacksknospen,** welche aus Stütz- und Sinneszellen zusammengesetzt sind, diese werden bei weitem am besten mit der Flemmingschen Lösung fixiert. Müllersche Lösung und Chromsäure liefern unbrauchbare Bilder.

Dünne Schnitte, die entweder längs durch den Becher oder quer durch denselben (sehr genaue Orientierung erforderlich) geführt worden sind, werden entweder mit Heidenhainscher Hämatoxylinlösung oder mit Safranin-Gentianaviolett (siehe § 663) gefärbt.

Will man die Nerven bis zu den Schmeckbechern resp. den Epithelien verfolgen, so verfährt man in folgender Weise:

Eine Papilla foliata eines Kaninchens wird mit einem Rasiermesser flach abgeschnitten, in vorher filtrierten Citronensaft auf 10 Minuten eingelegt, und auf 40 bis 60 Minuten in Goldchlorid übertragen. Überträgt man nun die Papille in ein schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser, so vollzieht sich die Reduktion im Lichte (Ranvier), und es kann das Objekt mit Alkohol nachbehandelt und dann senkrecht auf die Leisten der Papille geschnitten werden. Nachdem die Schnitte eine kurze Zeit mit Ameisensäure, worin sie etwas quellen, behandelt worden sind, wird das Präparat in Glycerin eingeschlossen.

532. Ösophagus. Für Übersichtsbilder wähle man den Ösophagus kleinerer Tiere. Von gröſseren Säugern muſs man entweder die Schleimhaut abpräparieren und diese allein schneiden oder mit Celloidin durchtränken, da sich Schnitte z. B. durch ein Segment des ganzen Ösophagus des Menschen in Paraffin nur schwer herstellen lassen.

533. Für alle **Drüsen** achte man darauf, daſs man es hier nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu thun hat. Die Drüsenzelle bietet ein ganz anderes Bild, wenn sie secerniert oder einige Zeit secerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien derselben herauszugreifen und besonders zu untersuchen haben, z. B. für Magen im 1., 2.

und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher) und die verschiedenen Bilder vergleichend studieren.

Geeignetes Material verschafft man sich, indem man Tiere zunächst hungern läfst, dann füttert und nach bestimmten Zeiten tötet. Hierzu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich vermittelst eines kleinen Glastrichters z. B. mit defibriniertem Blut füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läfst, z. B. Nervenreizung und gewisse Gifte.

534. Von praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie Pilocarpin und Atropin, da bei Atropin-Intoxikation die Secretion unterdrückt, bei Pilocarpin befördert wird; auf diese Weise bekommt man geladene und erschöpfte Drüsenzellen. Die beiden Gifte werden in folgenden Dosen beim Kaninchen angewendet: Pilocarp. hydrochlor. 1 ccm einer 5%igen Lösung; Atropin. sulf. 1 ccm einer 0,5%igen Lösung.

535. Für **Magen und Darm** dienen die gewöhnlichen Fixierungsmethoden, vor allem Sublimat. Stets lege man einige Kontrollstücke in Alkohol ein. Man nehme möglichst frische Objekte, bei welchen noch keine Selbstverdauung stattgefunden hat. Man fixiere kürzere Stücke ganz oder schneide den Darm auf. Abwaschen mit Wasser kann schaden.

Will man grössere Darmstücke in toto fixieren, so fülle man den Darm mittels einer geeigneten Spritze, die man in das eine Ende einbindet mit Fixierungsflüssigkeit, z. B. Chromsäure, nachdem man das andere Ende zugebunden hat; ist er mäfsig gefüllt, so binde man vor der Spritze auch zu und lege den Darm in eine reichliche Menge derselben Fixierungsflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

Übersichtsbilder über die Verteilung der Drüsenregionen des Magens (auch unter Erhaltung des Oberflächenepithels) bekommt man am besten mit Sublimat (Glasspritze). Will man Längsschnitte durch den ganzen Magen (man wähle anfangs kleine Tiere) anfertigen, so empfiehlt es sich, in den fixierten Magen Fenster einzuschneiden, um das Eindringen der Durchtränkungsflüssigkeiten zu erleichtern.

536. Für specielle Untersuchung der Mucosa empfiehlt *es sich,* dieselbe mit einem scharfen Messer abzupräparieren

und dann mit Nadeln auf einer Korkplatte auszuspannen. Die Korkplatte läfst man auf der Fixierungsflüssigkeit mit der Präparatseite nach unten schwimmen.

537. Magen-Drüsenzellen. Besonders für Sublimatschnitte ist die Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin geeignet. Eosin färbt bei niederen Vertebraten die gekörnten Drüsengrundzellen, während die Halszellen hell bleiben; bei Säugern färbt es die Belegzellen. Überhaupt scheinen die sauren Aniline die Belegzellen zu färben und es können dabei die roten mit Hämatoxylin und die blauen mit Karmin combiniert werden.

538. Hämatoxylin-Kongorot. Schnitte der in Alkohol oder Sublimat fixierten Fundusschleimhaut werden 1 bis 1½ Minuten in Böhmersches Hämatoxylin gebracht, einige Sekunden in 1‰ige wässerige Salzsäure, sodann mehrere Minuten in Wasser, oder wenn man eine stärkere Blaufärbung der Kerne und der Hauptzellen beabsichtigt, direkt im Wasser abgespült. Darauf kommen sie für 2 bis 5 Minuten in eine verdünnte (im Uhrschälchen sattrot aber gut durchsichtige) wässerige Lösung von Kongorot, aus dieser so lange in Wasser oder verdünnten Alkohol, bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Absoluter Alkohol zieht den Farbstoff sehr langsam aus. Belegzellen erscheinen dann rot und die Hauptzellen bläulich (Stintzing).

539. Behandelt man (vgl. das Kapitel Blut) die in dieser Weise tingierten Schnitte, am besten, wenn sie stundenlang in absolutem Alkohol verweilt haben, eine Zeit lang (½ Stunde oder eventuell länger) mit verdünntem Alkohol (ca. 70%), so geben die Belegzellen ihren roten Farbstoff wieder ab, in der Fundus- und Pylorusschleimhaut des Schweins aber finden sich, und zwar im inter- und subglandulären Bindegewebe, sowie in der Submucosa rundliche ovale Zellen mit rötlich-braun gekörntem Protoplasma, deren Kerne mit Hämatoxylin gefärbt sind (kongophile Zellen). Dieselben lassen sich auch mit Kongo allein färben und zeigen dann einen ungefärbten Kern. Da sich neben diesen Zellen auch Mastzellen mittels der Ehrlich-Wéstphalschen Mischung (siehe § 339) zur Anschauung bringen lassen, die sich auch ihrer Form nach wesentlich unterscheiden, können die kongophilen Zellen nicht mit letzteren identisch sein. Dagegen lassen sich auch durch Färbung mit Eosin Zellen darstellen, welche den mit Kongo gefärbten der Zahl, Verteilung und Form nach völlig entsprechen. Da die kongophilen Zellen ferner auch im Blut und in den Gefäfsen (auf Schnitten) gefunden werden, dürften sie wohl identisch sein mit Ehrlichs »eosinophilen« Zellen (siehe § 337) (Stintzing).

540. Nach der von Garbini (siehe § 269) angegebenen Färbemethode färben sich bei Vorbehandlung mit Flemmingscher Lösung Hauptzellen rot, Belegzellen blau.

541. Magen- und Darm**epithelien** können mittels der in § 300 ff. angeführten **Isolationsmethoden** untersucht werden, besonders eignet sich hierfür die 1‰ige Osmiumsäure.

Das Ausfliessen der auch bei Anwendung vieler Fixierungsflüssigkeiten leicht ausfliefsenden Oberenden der Magenepithelien kann man durch Fixierung mit Sublimat verhüten. Für Darmepithelien dagegen empfehlen sich Osmiumsäuregemische, speziell die Flemmingsche Lösung.

542. Zotten können **frisch** untersucht werden in indifferenten Lösungen, namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hiefür. — Bei allen Fixierungsmethoden hat man mit Kontraktion der Zotten zu rechnen, welche zur Ablösung des Epithels und ähnlichen Artefacten führen kann. Verhältnismäfsig gute Resultate erzielt man mit Osmiumsäure.

543. Bei Schnitten mit Flemmingscher Lösung behandelten Objekten entnommen, mit Gentiana oder Safranin gefärbt, erscheint der Inhalt der **Becherzellen** des Darmes ganz auffallend intensiv blau resp. rotbraun. Das Gerüstwerk in den Becherzellen tingiert sich auch mit Bismarckbraun.

544. Das **Mucin** in Schleimdrüsen und Becherzellen des Darmes verschiedener Tiere wird durch die basischen Teerfarbstoffe (im Sinne Ehrlichs s. § 334) mehr weniger intensiv gefärbt. H. Hoyer (90) erhielt mit Methylenblau (auch Bismarckbraun gibt gute Resultate) auch bei Anwendung stark verdünnter Lösungen ständige und intensive Tinktion des schleimigen Sekrets. Methode: Fixierung in Sublimat, Durchtränkung mit Paraffin. Aufkleben mittels 30—50%igen Alkohols auf Glimmerplatten; Xylol; etwa 90%iger Alkohol; Farbe; Alkohol; absoluter Alkohol, ätherisches Öl (Cedernholzöl z. B.); Canadabalsam (Einschluſs mitsammt dem Glimmerplättchen). Farbe: Zu 5 ccm destillierten Wassers werden 2 Tropfen einer gesättigten wässerigen Lösung von Methylenblau zugesetzt, diese Lösung läſst man 5—15 Minuten einwirken, bis der Schnitt eine dunkle Färbung angenommen hat. (Die konzentrierte Lösung ist in kochendem Wasser zu bereiten.)

Hoyer (90) empfiehlt ferner zur Schleimfärbung Thionin oder dessen Ersatz das Toluidin.

545. Neuere Farblösungen zur Schleimfärbung verdanken wir Paul Mayer (96):

Mucikarmin. Karmin 1 g, Chloraluminium 0,5 g, dest. Wasser 2 ccm, über kleiner Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzen, bis das Gemisch ganz dunkel geworden. Dazu 100 ccm Alkohol von 50%. Diese Stammlösung ausnahmsweise entweder direkt oder nach Verdünnung auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ mit Alkohol von 50 oder 70% gebrauchen, in der Regel aber mit (destillirtem oder) gewöhnlichem Wasser auf $^1/_{10}$ zu Mucikarmin (Gehalt an Karmin $^1/_{1000}$) verdünnen, das in den Schnitten oder dünnen Membranen nur den Schleim färben soll (eventuell zur Nachfärbung nach Hämalaun).

Muchämateïn. Hämateïn 0,2 g, zu zerreiben mit einigen Tropfen Glycerin, dazu Chloraluminium 0,1 g, Glycerin 40 ccm, dest. Wasser 60 ccm. — Spirituöse Lösung: Hämateïn 0,2 g, Chloraluminium 0,1 g, Alkohol (von 70%) 100 ccm, Salpetersäure 1—2 Tropfen. Beide Lösungen zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen.

546. Das Mucin löst sich in verdünnten Alkalien, z. B. in Kalkwasser, und kann aus diesen Lösungen mit Essigsäure gefällt werden. Der Niederschlag löst sich im Überschufs der Essigsäure nicht. Durch Alkohol wird Mucin gefällt, beim Kochen nicht. Mucinogen färbt sich nicht mit Hämatoxylin, wohl aber das Mucin selbst. Man kann durch diese Methode eine thätige und eine ruhende Drüse unterscheiden. R. Heidenhain (83).

547. Bei der Untersuchung des Schleimes haben wir im Auge zu behalten, dafs diejenigen Mucine, welche man bisher rein darzustellen vermochte (Mucin der Submaxillardrüse vom Rind, Mucin der Sehnenscheiden und des Nabelstrangs, sowie die Mucine der Weinbergschnecke) zwar die wesentlichsten Eigenschaften gemein haben, jedoch durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse voneinander abweichen.

548. Material für **Follikeluntersuchung** (siehe auch § 523). Besonders geeignet sind Peyersche Plaques, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit Flemmingscher Lösung behandelt werden. Meerschweinchen, Kaninchen, Dünndarm, Coecum; Processus vermiformis der letzteren enthält eine continuierliche Reihe von Follikeln.

So behandelte Follikel können geschnitten und nach Garbini (siehe § 269) gefärbt werden, wobei man Beziehungen zwischen den basalen Enden des Epithels und dem darunter liegenden Gewebe sieht (namentlich in Canadabalsampräparaten).

549. Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken, doch beachte man § 367.

550. **Drüsen** können an geeigneten Objekten **frisch** untersucht werden, z. B. Schleimdrüsen an der Nickhaut des Frosches.

551. Zur Fixierung kleiner Stücke von Speicheldrüsen verwende man Flemmingsche Lösung oder auch Sublimat.

552. Zur Färbung der **Gianuzzischen Halbmonde** empfehlen sich Doppelfärbungen von mit Alkohol, Sublimat etc. fixierten Stücken, z. B. Hämatoxylin- und Eosinfärbung, wobei die Halbmonde blau erscheinen.

553. Die Zellen der Schaltstücke v. Ebners färben sich mit Karmin und mit Hämatoxylin intensiver wie die übrigen der Drüse.

554. Die Strichelung der basalen Teile der **Speichelröhren** der Speicheldrüsen, sowie auch des Pankreas sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbten und in Glycerin eingeschlossenen Präparaten; in Canadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich.

Das gestrichelte Epithel der Speichelröhren färbt sich mit Hämotoxylin-Kongorot, § 538 rotbraun.

555. An der Mehrzahl der Speicheldrüsen (nicht an der Parotis des Kaninchens oder Sublingualis vom Hund z. B.) lassen sich durch Schütteln (um den Zutritt der Luft zu begünstigen) kleiner Stücke derselben mit Pyrogallussäure die Speichelröhren dunkelbraun färben (Kalk-Reaktion): die Farbe hält sich in Alkohol. (Merkel, 83.)

556. Frische Pankreasstückchen, in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig ausgebreitet, lassen die Körnchen der Innenzone erkennen. (Kühne und Lea, 74.)

557. Um die **Innen- und Aufsenzone der Pankreasdrüsenzellen** durch Färbung darzustellen, gibt es zwei Wege, entweder färbt man die Innenzone oder die Aufsenzone.

Zur Färbung der Aufsenzone hat Heidenhain (80) vorgeschlagen, in Alkohol fixierte Stücke mit ammoniakalischem Karmin oder mit Hämatoxylin zu färben (Boraxkarmin gibt ebenfalls gute Resultate).

Zur Färbung der Körnchen der Innenzone empfehlen sich für Sublimatpräparate Methylgrün-Eosin-

Mischung (s. § 270) oder Methylgrün-Fuchsin-S.-Mischung (s. § 271).

In beiden Fällen werden die Körnchen rot, während die Aufsenzone hell bleibt. Material: besonders geeignet sind Amphibien (Salamander), weniger geeignet Säugetiere, besser im Hungerzustand.

Bei Behandlung mit Flemming'scher Lösung, Färbung mit Safranin und Auswachsen mit Pikrinsäure färben sich die Körnchen der Innenzone rot.

558. Mit der Golgischen Methode (s. § 487) lassen sich auch Secretions- und Ausführungswege verschiedener Drüsen z. B. Magendrüsen, Pankreas und Speicheldrüsen zur Darstellung bringen.

559. Auerbach'scher und Meifsner'scher Plexus. Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode (s. § 457) darstellen. Aber auch in Alkohol fixierte aufgespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen z. B. der Ehrlichschen (siehe § 243) gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus. (Auch ältere Methoden Holzessig, verdünnte Essigsäure sind zu versuchen.)

12. Kapitel.

Leber.

560. Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst die leicht zu erlangende Schweineleber. Diese zeigt annähernd kugelige Läppchen, die durch sehr viel interlobuläres Bindegewebe von einander geschieden sind. Die Leber des Menschen (Ochs, Kaninchen, Meerschweinchen etc.) zeigen keineswegs so gut abgegrenzte Läppchen, diese konfluieren sehr oft mit einander zu doppelten, ja zu dreifachen Läppchen, die dann gemeinsam vom interlobulären Bindegewebe umgeben werden, welches unter Umständen sehr schwach entwickelt ist.

Das Besehen der Leber von Embryonen und Föten bietet insofern ein Interesse, als man dabei erfährt, dafs die Gliederung in Läppchen noch weniger ausgeprägt ist. In solchen Lebern ist der netzförmige Drüsentypus ein sehr ausgeprägter, und es sind gewöhnlich die perivaskulären Räume deutlich wahrzunehmen.

561. Die Wahl der Methoden richtet sich danach, ob man die Leberzellen, die Blutgefäfse, die Gallenkapillaren oder das Bindegewebe der Leber im Auge hat. Instruktive Übersichtsbilder liefern fast alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Man vermeide jedoch die chromsauren Salze, weil die Leberzellenkerne auffallend wenig Chromatin enthalten, und dieses in chromsauren Salzen zum Teil sich löst. Hämatoxylinfärbungen liefern die instruktivsten Bilder. Mit Osmiumsäure und Flemmingscher Chrom-Essig-Osmium-Säure erzielt man in den Leberzellen die Differenzierung in Proto- und Paraplasma Kupffers.

562. Die **Blutgefäfse** der Leber werden gewöhnlich von der Pfortader aus injiziert (siehe § 516).

563. Auch die **Gallenwege** kann man vermittelst der Injektionsmethode zur Darstellung bringen, am besten mit in Wasser löslichem Berlinerblau, und zwar mit einer konzentrierten Lösung. Man injiziert entweder vom ductus hepaticus oder vom ductus choledochus aus. Die Injektionsmasse gerät im letzteren Falle zunächst in die Gallenblase und erst, nachdem diese prall gefüllt ist, verbreitet sie sich durch den ductus hepaticus in die Leber. Es wird auf diese Weise ein zu hoher Druck unmöglich, da die Gallenblase die Regulierung des Druckes übernimmt. Die Resultate dieser Injektion sind gar zu oft nicht befriedigende. Man hat mit Extravasaten zu kämpfen, und im günstigsten Falle sind an ganz beschränkten Stellen der Leber kleine Distrikte des Läppchens, gewöhnlich die der Peripherie, injiziert. Es lassen sich aber die Gallenkapillaren durch Färbung darstellen.

564. Eine andere historisch ältere ist die sog. Methode der **physiologischen Selbstinjektion** von Chrzonszczewsky (64 und 66) angegeben. Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung des Indigokarmins (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, erwachsenes Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von $1^1/_2$ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit absolutem Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäfse der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus aussprizt. Man kann auch nachträglich die Gefäfse mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt *alsdann* mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallen-

kapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäfse neben einander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

565. Beim Frosch läfst sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

566. Darstellung der **Gallenkapillaren** mit **dichromsaurem Silber.** (Böhm A., siehe Kupffer, 89.) Frische Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm grofs sein dürfen, werden auf 3 mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen. 3% ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Volumina, 1% ige Überosmiumsäure-Lösung 1 Volumen. Hieraus auf 24 bis 48 Stunden in eine ¾ % ige wässerige Silbernitrat-Lösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser gewaschen, in Alkohol kurz nachgehärtet und geschnitten. Die Gallenkapillaren erscheinen deutlich markiert.

567. Ein Stück Leber eines frisch getöteten Tieres wird mit Kalium bichromicum in von 2 auf 5% rasch ansteigender Lösung fixiert. Nach drei Wochen bringe man das Stück in eine ¾% ige Lösung von Argentum nitricum. Nach wenigen Tagen, nach acht Tagen sehr ausgebreitet, färben sich die Gallenkapillaren Oppel (90).

568. Darstellung des **Bindegewebes der Leber** nach Kupffer (76).

Aus der frischen Leber mittels des Doppelmessers angefertigte Schnitte werden in 0,6%iger Kochsalzlösung abgespült oder aber, und das empfiehlt sich mehr, eine Viertelstunde lang mit verdünnter Chromsäurelösung (0,05%) behandelt, hierauf in eine stark verdünnte Goldchloridlösung nach Gerlachs Vorschrift

(1 Teil Goldchlorid
1 Teil Salzsäure und
10 000 Teile Wasser)

übertragen und verbleiben in der Lösung, unter Ausschlufs des Lichtes, bis sie sich rot oder rotviolett gefärbt

haben. Ist diese Färbung in 48 oder mehr Stunden erreicht, so sind die Schnitte unmittelbar zur Beobachtung zu verwenden.

Starke Lösungen des Goldsalzes von 1/4 bis 1/2 % und dementsprechend kürzere Behandlung der Schnitte mit der Lösung sind für den vorliegenden Zweck nicht geeignet. Das vorgängige Abspülen der Schnitte mit verdünnter Chromsäure ist keineswegs conditio sine qua non des Gelingens, trägt aber wesentlich dazu bei. Zur Untersuchung bringt man die Schnitte in mit Salzsäure angesäuertem Glycerin auf den Objektträger.

569. Diese Methode, für welche man die Schnitte auch vermittelst des Gefriermikrotoms entnehmen kann, (P. Rothe) führt unter Umständen auch zur Darstellung der Sternzellen Kupffer's.

570. Bruchstücke des Bindegewebes der Leber kommen auch dann zum Vorschein, wenn man frische Leberstücke, die nicht über 1 ccm grofs sein dürfen, auf 2—3mal 24 Stunden in 1/2%ige Chromsäurelösung und dann auf 1—2 Tage in eine 1/2%ige Silbernitratlösung verbringt. Die Stücke können, nachdem sie einige Minuten in destilliertem Wasser abgespült worden sind, mit Alkohol gehärtet und geschnitten werden. Das intralobuläre Bindegewebe erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz auf farblosem Grunde. Böhm A., siehe Kupffer (89).

571. Sicherer ist folgende Methode, Oppel (90 und 91): In Alkohol fixierte grofse Stücke der Leber werden auf 24 Stunden in eine 5%ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum gebracht. Man spüle sie dann mit einer sehr dünnen Höllensteinlösung (einige Tropfen einer 3/4%igen Lösung auf 30 ccm destillierten Wassers) ab und lege sie in eine 3/4%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach 24 Stunden haben sich in der Leber intralobuläre Fasernetze (Gitterfasern) gefärbt, welche die Blutkapillaren umspinnen. Die Stücke kommen einige Stunden in destilliertes Wasser, dann in Alkohol. Paraffin-Durchtränkung ist zulässig, doch schneidet man besser mit freier Hand. Auch verhältnismäfsig dicke Schnitte (30—40 μ) sind brauchbar für das Studium der Gitterfasern. — Stets sind nur die Randpartieen des Stückes gefärbt; die Schnitte sind daher parallel zu einer Seite nahe der Oberfläche des Stückes zu entnehmen.

572. Die bei der Lymphdrüse erwähnte Pinsel- resp. *Schüttelmethode* der Schnitte führt zur Darstellung des

interlobulären Bindegewebes und eines Teils des intralobulären.

573. Siehe auch die Mall'sche Methode § 526.

574. Um das Glykogen der Leber zu studieren, verfährt Ranvier folgendermafsen: Es wird ein Hund 2 Tage lang mit gekochten Kartoffeln gefüttert, die durch Zusatz von Fett schmackhafter gemacht werden, danach getötet, und kleine Leberstücke mit einem Gefriermikrotom in Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Jodserum (siehe § 73) gebracht und darin untersucht. Man findet zunächst das Glykogen in der Leberzelle in diffuser Form; es ballt sich aber später zu unregelmäfsigen Massen. Noch später tritt Glykogen auch an der Oberfläche der Leberzellen auf. Solche Schnitte, welche die Glykogenjodreaktion (weinrote Farbe desselben) zeigen, kann man mit Osmiumdämpfen räuchern und so 24 bis 48 Stunden fixieren. Später verschwindet die weinrote Farbe gänzlich.

575. Zur Darstellung der Nerven in der Leber empfiehlt Berkley (93) folgende Methode: $^1/_2$—1 mm breite Streifen des frischen Organes kommen in zur Hälfte mit heissem Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser auf 15 bis 30 Minuten und dann in eine Lösung von Kalium bichromicum und 2 %iger Osmiumsäure (100:16) im Dunkeln bei 25° C. auf 48 Stunden. (Diese Lösung mufs man vor dem Gebrauche einige Tage in der Sonne stehen lassen.) Die Objekte werden dann mit einer $^1/_4$—$^3/_4$ %igen wässerigen Silbernitratlösung 5—6 Tage behandelt, gewaschen, geschnitten, (rasche Celloidineinbettung nicht ausgeschlossen) Bergamottöl, Xylol-Kanadabalsam.

13. Kapitel.

Respirationsorgane. Thyreoidea und Thymus.

576. Kehlkopf und Trachea möglichst gesunder Tiere, die nicht alt sein dürfen, werden am besten in der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert, aber auch andere Fixierungsmittel, wie z. B. Sublimat, Chromsäure und auch Alkohol geben ganz befriedigende Bilder.

Die Knorpel des Kehlkopfes, auch der Trachea älterer Tiere sind häufig verkalkt, daher schwer im Ganzen zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach dem Fixieren sorgfältig ab, durchtränke und schneide diese allein. Oder aber man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit Paraffin und schneide dann mit einem Messer die harten Knorpelpartien ab, letzteres Verfahren gibt bessere Resultate.

Die mit der Flemming'schen Flüssigkeit (siehe § 96) vorbereiteten Stücke werden in Schnitte zerlegt und mit Safranin tingiert. Aufser der Kerntinktion des Safranins erhält man bräunlich tingierte Becherzellen und rotbraun tingierte elastische Netze des Stratum proprium der Mucosa und der Submucosa.

Nach Sublimat, Chromsäure und Alkohol kann man mit Erfolg die Stückfärbung mit Borax-Karmin anwenden.

577. Fafst man speziell das Studium der Drüsen ins Auge, so färbe man mit Hämatoxylin und kombiniere diese Färbung eventuell mit Eosin (siehe § 261).

578. Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch maceriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden. (Siehe § 298 ff.).

579. Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** mufs mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft abnorme Verhältnisse antrifft.

Um den Zusammenhang kleinster Bronchien des Alveolargangs mit dem Trichter zu sehen, fertige man Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Pleura an.

580. Um das sonst so schwer zu sehende **respiratorische Epithel** sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, die Lunge mit Silbernitratlösung zu injizieren. Man verfahre dabei folgendermafsen F. E. Schulze (71) und Kölliker (81): Man spritze eine 0,05 %ige Silbernitratlösung von der Trachea oder einem grofsen Bronchus aus in die Lunge ein, die man ohne sie zu verletzen dem Tiere entnommen hat. Ist so die Lunge mäfsig gefüllt, so binde man die Trachea an der Spitze der Kanüle ab, um das Zurückfliefsen der injizierten Flüssigkeit zu verhindern und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$ %ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80 % aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnitten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweifs ist zu vermeiden, wegen des späteren Nachdunkeln desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silberlinien der Alveolarepithelien sowohl. als wie der Alveolargänge. Die Kernfärbung ist zulässig. (Hämatoxylin oder Safranin.)

581. Elastische Fasern der Lungenalveolen untersucht man an frischen mit Kalilauge behandelten Präparaten (siehe § 359); aber auch mit 1/3 Alkohol macerierte Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können, liefern gute Bilder.

582. Die Gefäfse der Lunge lassen sich verhältnismäfsig leicht mit Karmin- oder Berlinerblauleim injizieren, aber man kann bei Amphibien z. B. die mit Blut gefüllten Blutgefäfse in vivo beobachten (siehe Blutkreislauf § 349 ff.)

583. Man fixiere kleine Stückchen der **Schilddrüse** in der Flemming'schen Lösung (siehe § 96) 1 bis 3 Stunden, wasche 24 Stunden in oft zu wechselndem destillierten Wasser aus und behandle mit allmählich verstärktem Alkohol (70%, 90%, 96%). Man schneide und färbe entweder im Stück mit Heidenhain'scher Hämatoxylinlösung (siehe § 241) oder und dies mit grofsem Erfolg, mit Ehrlich-Biondischer Lösung (siehe § 273) (Langendorff, 89).

Nach dieser Methode ist es diesem Autor gelungen, zweierlei Zellen der Alveolen zur Darstellung zu bringen: Haupt- und Kolloidzellen (siehe § 584) — helle mit grünen Kernen und rote mit grünen Kernen.

584. Die Kolloid-Substanz sieht homogen aus, trübt sich mit Alkohol und Chromsäure nicht, wird durch Essigsäure nicht geronnen im Gegensatz zu Schleim und färbt sich mit vielen Farbstoffen, z B. mit Hämatoxylin.

Kolloid quillt in Essigsäure auf (Waschen in physiologischer Kochsalzlösung bringt die Masse auf das frühere Volumen zurück) weniger in 1/5%iger Salzsäure.

33%ige Kalilauge oder starke Natronlauge läfst Kolloid weniger aufquellen, setzt man aber Wasser zu, so zerfällt Kolloid eher, als sich Bindegewebe löst. 10%ige Kalilauge löst nach längerer Zeit Kolloid. Salpetersäure macht Kolloid etwas schrumpfen.

585. Die Technik der **Thymus** schliefst sich eng an die der Lymphdrüsen an. Als Material sind besonders fötale Thymusdrüsen zu beachten.

14. Kapitel.

Niere und Harnwege. Nebenniere.

586. Beliebig gehärtete Nieren, mit Alkohol z. B., werden in einer passenden Richtung mikrotomiert oder mit der Hand geschnitten und geben instruktive Bilder über die Verbreitung der **Mark-** und **Rindensubstanz.**

587. Will man die **Gefäfse** der Niere spezieller ansehen, so untersucht man vorher injizierte und fixierte Nieren. Die Injektion an kleineren Tieren wird von der Aorta descendens aus vollzogen, bei gröfseren Tieren von der Arteria renalis aus. Die mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 516 ff.) injizierten Nieren werden mit Spiritus fixiert und geschnitten; nicht gefärbte Schnitte, die in Kanadabalsam aufgehellt sind, zeigen nur die Gefäfsbahnen. Färbt man aber solche Schnitte, so sieht man neben den Gefäfsbahnen die nicht besonders gut konservierten Harnkanälchen.

588. Um die **Harnkanälchen** zu isolieren, gebraucht man die reine Salzsäure, von 1,12 spezifischem Gewicht und läfst diese 15 bis 20 Stunden (unter Umständen genügen auch 4—6 Stunden) auf kleine Stücke (etwa 0,5 cm Seite) einer nicht zu sehr frischen Niere (etwa 24 Stunden nach dem Tode), einwirken. Nach der angegebenen Frist werden die Stücke mit destilliertem Wasser gewaschen auf dem Objektträger gezupft und in verdünntem Glycerin untersucht. (Schweigger-Seidel, 65.) Das Glycerin mufs zu den isolierten Stücken sehr vorsichtig zugesetzt werden, damit dieselben durch Strömungen nicht verwickelt resp. gebrochen werden.

589. Mit gutem Erfolge haben wir für die Isolation der Harnkanälchen kleine frische Stücke der Niere in eine starke bis auf 40% verdünnte rauchende Salpetersäure auf 2 (bis 4) Stunden eingelegt. Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen, und man kann unter Umständen mit blofsem Schütteln in einem Uhrschälchen sehr lange Abschnitte isolieren.

Ein sehr gutes Objekt für diese Methode scheint die Niere der Schildkröte (aber auch die der Maus) zu sein, denn wir haben vor Jahren ohne Schwierigkeit in zahlreichen Fällen im Zusammenhange Ampulle, gewundenes Stück, Henlesche Schleife, Schaltstück, Sammelröhre bis zum Konfluieren mit der nächsten Sammelröhre gesehen. Sind die Präparate gut ausgewaschen, so empfiehlt sich das Nachfärben mit saurem Fuchsin, von welchem man einige Tropfen dem Wasser zusetzt, in welchem die macerierten Stücke gewaschen werden. Untersucht und eingeschlossen werden die gezupften Präparate in mit Wasser verdünntem Glycerin, welches vorsichtig an Stelle des Wassers substituiert wird.

590. Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, aber keine so guten Resultate wie die beiden obigen liefert, ist *die Anwendung* der konzentrierten Kalilauge. Kleinere

Stücke einer frischen Niere werden auf 1 bis $1^1/_2$ Stunden in konzentrierte Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

In analoger Weise wie in der Leber die Gallenkapillaren, so kann man in der Niere mit Indigokarmin die Harnkanälchen auf Schnitten zur Anschauung bringen. (Chrzonszczewsky siehe § 564).

591. Imprägnationen mit Silbernitrat (mit Hilfe der Methode von Golgi oder von Cox, siehe § 484) liefern einige Aufschlüsse über die gegenseitigen Beziehungen der Zellen der Harnkanälchen. Böhm und v. Davidoff (95).

592. Zur Darstellung der Strichelung der Epithelien (Membranae propriae und Bürstenbesätze intensiv rot) empfiehlt Sauer (95):

Alkohol absol.	60
Chloroform	30
Eisessig	10

oder Perenyische Flüssigkeit; 3—5 Stunden, Übertragen in absoluten Alkohol, sehr vorsichtiges Übertragen in Paraffin mit Einschaltung von Zwischenflüssigkeiten. — Färben 1 bis 2 Stunden mit 1,5%iger Eisenalaunlösung, Spülung mit Wasser, Hämatoxylin (0,5%iges Hämatoxylin 100 + 5 ccm einer 1%igen Kaliumhypermanganicum-Lösung) 3 Stunden, Eisenalaunlösung, Wasser, Alkohol 90%ig, Rubin S (2—3 Tropfen auf 15 ccm 90%iger Alkohol) wenige Minuten.

593. Will man Näheres über die **Epithelien** der Harnkanälchen erfahren, so fixiere man ganz kleine Stücke der Niere in Sublimat oder Flemming'scher Flüssigkeit. Die Schnitte führe man so, dafs man entweder die Kanälchen längs im Schnitte oder aber bestimmte Abschnitte senkrecht auf die Längsaxe derselben trifft.

Sehr günstig für die Untersuchung des Epithels der Bowman'schen Kapsel und dessen Übergang in das gewundene Kanälchen ist nach Benda (87 a) die Mäuseniere.

594. Um Epithelien isoliert zu bekommen, empfiehlt sich die Macerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (siehe § 300) oder nach Heidenhain (80) in 5%iger Lösung von neutralem chromsauren Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen bestimmter Abschnitte der Zellen der Harnkanälchen zum Vorschein kommen.

595. Am **Ureter** und der **Harnblase** wird man namentlich auf das Studium des Epithels einige Zeit verwenden, indem man die erwähnten Organe im kolabierten und

dann im gedehnten Zustande untersucht. Letzterer wird dadurch hervorgerufen, dafs man den Ureter, resp. die Harnblase prall mit derselben Flüssigkeit injiziert, in welcher man sie (nach Unterbindung) zu fixieren beabsichtigt. In letzterem Falle erscheint das Epithel aufserordentlich niedrig, in einer bestimmten Weise gedehnt, aber kontinuierlich. (Eine ähnliche Dehnung der Epithelien kann man in allen epithelialen Röhren beobachten.) London (81) und Kann (89)

596. Nebenniere. Chromsäure, chromsaure Salze und deren Mischungen, angewendet in der gewöhnlichen Weise färben die Marksubstanz der Nebenniere eigentümlich braun. Dieses Verhalten findet auch bei den Tieren statt, bei welchen Mark und Rinde getrennt liegen. (Eberth 71/72 vergl. auch Rabl H. 91).

Das in den Zellen der Rinde der Nebenniere vorhandene Fett ist nicht mit dem gewöhnlichen Körperfett identisch, es löst sich nach Osmierung in Chloroform und Bergamottöl.

15. Kapitel.

Geschlechtsorgane und Notizen über embryologische Technik.

597. Für das Studium der **Ovarien** wähle man, je nachdem man reifere oder sich entwickelnde Follikel und Eier untersuchen will, das Material. Dabei diene leitend die Berücksichtigung der Brunstzeit, Eierlegen u. s. w.

598. In der Pause hat man wenig Chancen, reife oder reifende Eier anzutreffen. Will man die Entwicklung der Follikel und Eier studieren, so wähle man sich ein embryonales Material, dessen Alter in einem bestimmten Falle jedesmal durch Bücher etc. festzustellen ist.

599. Die unreifen Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Frösche, auch Reptilien und Vögel kann man dazu benutzen, um sich daraus frische Präparate anzufertigen. Man braucht nur die unreifen, ganz hellen (gewöhnlich dorsal liegenden) Partien des Eierstockes aufzusuchen, auf einem Objektträger in einer indifferenten Flüssigkeit auszubreiten und mit schwacher Vergröfserung zu untersuchen.

Will man bei stärkerer Vergröfserung untersuchen, so mufs man die Eier mit Vorsicht isolieren, mit einem mit Schutzleisten oder Wachsfüfschen versehenen Deckglase *bedecken* und beobachten.

600. Aber es gelingt auch ohne Schwierigkeiten, die viel kleineren Eier der Säugetiere zu isolieren. Man führe zu diesem Zwecke mit einem scharfen Rasiermesser einen Schnitt durch ein frisches Ovarium. Die Oberfläche wird mit wenig indifferenter Flüssigkeit benetzt und mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst geschabt. Es werden infolge des sanften Druckes zahlreiche unreife Follikel die Eier in die indifferente Flüssigkeit entleeren, und wenn man diese auf einen Objektträger überführt und mit einer schwachen Vergrößerung untersucht, so findet man das Gewünschte in zahlreichen Exemplaren.

Einzelne davon werden ins Auge gefaßt, die übrigen samt der Flüssigkeit auf einen andern Objektträger übertragen, um weiter untersucht zu werden, oder die Flüssigkeit samt diesen entfernt. Es wird ein Deckgläschen mit Vorsicht (eventuell mit Schutzleistchen) darauf gelegt, und es ist nun möglich, mit einer stärkeren Vergrößerung zu untersuchen.

601. Die Fixierung der so isolierten Eier auf dem Objektträger, z. B. mit Osmiumsäure durch Räuchern oder durch Zufließen derselben unter das Deckgläschen, ist möglich, man muß aber bei der Überführung der so fixierten Eier in Glycerin oder Alkohol außerordentlich vorsichtig sein, indem man mit den schwächsten Konzentrationen derselben anfängt und dieselbe ganz allmählich steigert, um schließlich zu der gewünschten zu gelangen.

602. Die **reifen Eier**, welche bei unseren einheimischen Fischen, Amphibien und Reptilien verhältnismäßig voluminös und im großen und ganzen undurchsichtig sind, kann man nicht ohne weiteres bei durchfallendem Lichte untersuchen; wohl sieht man manches bei auffallendem, wobei entweder Lupe oder die schwächsten Objektive des zusammengesetzten Mikroskops in Betracht kommen.

603. Weit günstiger in dieser Beziehung sind die reifen Eier der Säuger. Ovarien der erwachsenen Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit liefern solches Material.

Die größten reifen Follikel, die sich sehr gespannt anfühlen, werden mit einer scharfen Nadel angestochen und die dabei in einem Strahl austretende Flüssigkeit, in der gewöhnlich das Ei mit der Zona radiata enthalten ist, in ein Uhrschälchen gesammelt. Der Inhalt wird mit Vorsicht unter einer Lupe untersucht und das Ei mit der

Zona radiata meist gefunden; es wird vorsichtig mit einem dünnen Spatel auf einen Objektträger übertragen, ein Deckglas mit Schutzleistchen (diese sind hier unbedingt nötig) aufgelegt und untersucht.

604. Wendet man keine Schutzleistchen an, so drückt das Deckgläschen auf das immerhin ziemlich voluminöse Gebilde, und es zeigt alsbald die Zona pellucida einen in der Sehebene liegenden strichförmigen Riſs, der sich allmählich unter steigendem Drucke vergröſsert, was durch die Druckrichtung bedingt ist.

605. Auch solche Eier können wie die unreifen unter dem Deckglase fixiert werden; aber hier erfordert es noch mehr Geduld und Übung, um einigermaſsen brauchbare Präparate zu erzielen.

606. Um Übersichtsbilder durch Eierstöcke zu erlangen, führen die im allgemeinen Teile angegebenen Methoden mehr oder weniger zum Ziele; vor allem die Flemmingsche Lösung, welche neben anderen Vorzügen den hat, daſs sie die komplizierten Strukturen des Eiprotoplasmas, sowie auch die Zona pellucida vorzüglich erhält. Safranin als Farbe ist hier wohl geeignet.

Sublimat und Chromsäure geben z. B. ebenfalls instruktive Bilder; man färbt am besten mit Karmin oder Hämatoxylin. Bei diesem letzteren liefert die Kombination mit Eosin demonstrative Bilder.

607. Man wählt am zweckmäſsigsten für Studienzwecke Eierstöcke kleiner Tiere wie Mäuse, Ratten, Fledermäuse etc., da dieselben sich viel besser fixieren lassen und leichter zu haben sind. Groſse Ovarien, Kuh, Mensch lassen sich nicht gleichmäſsig in oben angeführter Flüssigkeit fixieren. Will man aber auch hier Studien machen, so fixiere man entweder kleinere Stücke wie oben oder greife zu chromsauren Salzen (siehe § 84 ff.)

608. Das **Keimepithel**, das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dargestellt werden (siehe § 308). Das Ovarium wird mit Alkohol nachbehandelt, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinien des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im ganzen einschlieſsen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung beobachten.

609. Tuben werden wie Darm behandelt. Da aber die *Tube sehr stark* und vielfach gewunden ist, so ist es, falls

es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Fixieren zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krummen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, einer grofsen Übung bedarf.

610. Auch Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit in die Tube und das Übertragen derselben in diese ist anzuraten. Man sieht dabei, dafs sehr viele Falten sich ausgleichen.

611. Der **Uterus** wird ebenfalls nach der Methode, die im Abschnitt Darm angegeben worden ist, behandelt. Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor sie in dieselbe eingelegt werden, ebenfalls einspritzen, wobei die Tube, wenn dies erwünscht ist, mitbehandelt werden kann.

Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche.

Die Scheide behandle man wie Oesophagus oder Haut.

612. Das Flimmerepithel der Tube und des Uterus kann nach dem Aufschneiden der Organe abgeschabt, auch können kleinere Fetzen davon entnommen und frisch untersucht werden (siehe § 298).

613. Es bietet sich bei uns Gelegenheit, **Embryonen resp. abgelegte befruchtete Eier** mit Leichtigkeit zu erlangen, daher lassen wir einige diesbezügliche Notizen und Erfahrungen hierüber folgen.

614. Im Frühjahr und im Sommer hat man Gelegenheit, zahlreiche Laichportionen und Cocons verschiedener **wirbelloser** Tiere, namentlich Schnecken in den stehenden Gewässern, Bächen, die nicht rasch fliefsen u. s. w. zu sammeln, was, wenn die Eier nicht zu weit entwickelt sind, allgemein interessantes Beobachtungsmaterial abgibt. Man kann beispielsweise das Austreten der Richtungskörperchen an der Tellerschnecke und weiter die Furchung frisch am lebenden Ei beobachten.

615. In dem im Darm der Pferde (namentlich im Winter) vorkommenden Spulwurm Ascaris megalocephala hat man ein verhältnismäfsig leicht zu beschaffendes Objekt für das eingehendste Studium der Befruchtung, sowohl als der Teilungsvorgänge an sich furchenden Eiern. In den verschiedenen Regionen der Eiröhren desselben Tieres findet man zahlreich die verschiedensten Stadien: Eindringen des Zoosperms, Bil-

dung des Spermakerns, Bildung der Richtungskörper etc. bis zur Furchung. Die Ascaris der Pferde kommt in zwei Varietäten vor: die eine hat vier, und die andere gar nur zwei Chromosomen in den somatischen Zellen.

Man verfährt folgendermafsen: Der Wurm wird aufgeschnitten, die Eiröhre auspräpariert (ohne Zerren!) und in Pikrinessigsäure-Lösung (§ 637) auf 24 Stunden gelegt, 24 Stunden in fliefsendem Wasser und dann in 70%igem Spiritus ein paar Tage gewaschen; gefärbt wird in alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden und ebenso lange mit 1 Salzsäure auf 100 ccm 70%igem Spiritus behandelt; es wird wieder mit 70%igem Spiritus gewaschen. Die Eier werden nun in ein Gemisch von Glycerin 1 und abs. Alkohol 3 übertragen; der Alkohol verdunstet, und so werden die Eier allmählich in reines Glycerin übergeführt (Boveri, 87).

616. Fischeier sind gelegentlich das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man frisch an der Oberfläche den Keim bei günstiger Beleuchtung sehen und studieren.

Die Laichzeit einiger Fische notieren wir nach dem bayerischen Königskalender (83): Asche: März, April; Amaul: April, Mai; Barbe: Mai, Juni; Barsch: März, April, Mai; Bartgrundel (Schmerle): März, April; Elritze: Mai, Juni; Felchen: November, Dezember; Forelle: Oktober, November; Gareisl: (Karausche): Juni; Gründling: Mai, Juni; Hecht: April, Mai; Huchen: April; Karpfen: Mai, Juni; Kaulbarsch: April, Mai; Lachs: September, Oktober, November; Renke: November, Dezember; Rothauge: April, Mai; Saibling: Juni, Oktober, November; Schleie: Mai, Juni; Waller (Wels): Juni.

617. Die leichteste Methode, um sich Übersichtsbilder über die Keime und Embryonen zu verschaffen, ist das Fixieren der frischen Eier in einer 1/3%igen Chromsäure 12—24 Stunden. Man übertrage alsdann die Eier in fliefsendes Wasser, nach einigen Stunden hebt sich die Eischale etwas ab, was allerdings eine geringe Kompression des Eies bedingt. Ist die Eihaut abgehoben, so kann man den Teil des Eies, welcher die Keimscheibe enthält, indem man das Ei mit der linken Hand festhält mit einem scharfen Rasiermesser abschneiden. Die so abgetragenen Segmente werden noch weiter mit Wasser gewaschen, bis die gelbe Farbe die Embryonen resp. die Keime vollständig verläfst. (Der Dotter bleibt immer etwas gefärbt.)

618. Besser erhaltend und auch für die allerjüngsten Stadien brauchbar ist die Pikrin-Salpetersäure nach Paul Mayer (siehe § 111). Die Eier, welche Furchungsstadien, resp. junge Keime enthalten, werden auf 1 1/2—2 Stunden in dieser Flüssigkeit fixiert und auf ebenso lange Zeit in 70%igen Spiritus übertragen. Es werden dann die die Keime resp. Embryonen enthaltenden Segmente mit einem Rasiermesser hart unter dem Keim abgeschnitten; die Eihaut läfst sich gewöhnlich durch *Schütteln* in 70%igem Spiritus eventuell durch Nachhelfen mit

Nadeln leicht entfernen. Die so gewonnenen Eisegmente werden vorsichtig in frischen 70%igen Spiritus übertragen, der so lange gewechselt wird, bis die gelbe Farbe, namentlich der Embryonen und Keime, vollständig verschwindet.

619. Noch bessere Resultate erzielt man (wir haben Forelleneier im Auge) mit Sublimat-Eisessig. 80 ccm konz. wässerige Sublimatlösung und 20 ccm Eisessig läfst man ½—¾ Stunden lang einwirken. Die so fixierten Eier werden in 70%igen Spiritus übertragen und nach 1 Stunde werden, wie bei der vorigen Behandlung angegeben worden ist, die Keime mit dem Rasiermesser abgeschnitten. Die weitere Behandlung wie bei Sublimat (siehe § 103), nur darf man zum Aufbewahren keinen stärkeren Alkohol wie 85%igen anwenden.

620. Henneguy (88) empfiehlt: 1. Die Eier werden auf einige Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt, dann wird das Ei mit einer Schere in Müllerscher Flüssigkeit geöffnet, der Dotter, welcher im Wasser koaguliert, löst sich in Müllerscher Flüssigkeit und der mit Osmiumsäure fixierte Keim kann aus der Eikapsel extrahiert werden. — Einige Tage Müllersche Flüssigkeit, dann auswaschen, allmählig verstärkter Spiritus. Bei dickeren Embryonen dringt die Osmiumsäure selbstverständlich durch den Embryo nicht ganz durch. — 2. Noch besser: 10—20 Minuten in Kleinenbergsche Flüssigkeit + 10% Eisessig; das Ei wird in einer 10%igen Eisessiglösung eröffnet, worin sich der Dotter löst; der Keim resp. der Embryo wird herausgenommen und in reine Kleinenberg'sche Flüssigkeit übertragen; nach einigen Stunden 60%iger, 70%iger Alkohol u. s. f.

621. Es mufs als allgemeine Regel gelten, dafs das gesamte Fischmaterial möglichst rasch bearbeitet werde; denn werden die Eier längere Zeit in Spiritus aufgehoben, so wird, wenn derselbe auch schwach gewählt wird, die Dottersubstanz doch so hart und brüchig, dafs man sie gar nicht mehr, wenigstens mit gewöhnlicher Paraffindurchtränkung, schneiden kann. Mit reiner Celloidindurchtränkung kann man keine für embryologische Zwecke genügend feinen Schnitte erzielen. Die kombinierte Celloidin-Paraffinmethode führt hier manchmal noch zum Ziele. Liegen aber solche Eier ein paar Jahre in Spiritus, so lassen sich zwar die Keime und Embryonen bei grofser Übung mit Starnadeln und Skalpellspitzen absprengen und weiterschneiden, aber der Dotter nicht mehr.

622. Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte künstliche Befruchtung der Eier vornehmen. Zur Zeit, wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daran erkennt, dafs beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsproducte Eier resp. Sperma (Milch) ohne weiteres abgegeben werden, verfahre man folgendermafsen: In eine reine Schüssel werden die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt gebracht.

Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt Es wird darauf Milch in derselben Weise gewonnen und auf die Eier möglichst gleichmäfsig verteilt, dann das Ganze ohne jeglichen Zusatz umgerührt, etwa mit der Fahne einer Gänsefeder. Erst nach etwa 5 Minuten wird reines Wasser, d. h. ein solches, in welchem die Tiere im freien Zustande laichen, und auch womöglich von derselben Temperatur (eher um ein paar Grad niederer) zugesetzt, und zwar so viel, dafs die Eier reichlich mit Wasser bedeckt werden. Es wird wiederum einige Minuten gewartet (bis 10 Minuten), das mit Milch getrübte, weifslich aussehende Wasser abgegossen und durch frisches so oft ersetzt, bis die Trübung nicht mehr makroskopisch wahrzunehmen ist. Die Besamung ist vollzogen und man kann die Eier in frischem fliefsenden Wasser zur Weiterentwickelung bringen.

Für diesen letzteren angedeuteten Zweck gibt es ganz spezielle Apparate, die namentlich in den sogenannten Brutanstalten verwertet werden, die man aber, falls man über fliefsendes Wasser verfügt, leicht ud billig durch einfachere mit Erfolg ersetzen kann.

Die künstlich befruchteten Forelleneier kann man, unmittelbar nach der Besamung beginnend, öfter (etwa alle 10 Minuten) nach § 619 konservieren (die Eihaut darf man nicht zu entfernen suchen) bis zum Auftreten der ersten Furche etwa. — An solchem Material, welches man in Paraffin schneidet und mit Delafieldschem Hämatoxylin z. B. färbt, kann man (von Wirbeltieren am bequemsten bei der Forelle) die Befruchtung — eingedrungenes Zoosperm, Bildung der Richtungskörper, des Eikernes, des Furchungskernes etc. studieren.

H. Blanc bedient sich folgender Methode: Forelleneier, welche nach der russischen Methode (auf trockenem Wege) befruchtet sind, werden in Pikrinschwefelsäure und Eisessig, fixiert (600 Vol. Wasser; 2 Vol Schwefelsäure, 100 Vol. konzentrierte Pikrinsäure und 8 Vol. Eisessig). Die Eier können in dieser Flüssigkeit einige Stunden bleiben, ein längeres Verbleiben schadet keineswegs. Die Eier werden sodann in einer 10%igen Essigsäure eröffnet, welche den Dotter löst und die Extraktion des Keimes mit Hilfe einer Lancette und des Pinsels erlaubt. Die Keimscheiben werden mit 80—90%igem, dann absolutem Alkohol behandelt, mit Boraxkarmin gefärbt und in toto in Balsam oder Glycerin eingeschlossen. Bei jungen Stadien kann man den animalen Pol des Eies abschneiden, man erhält dann die Keimscheibe und die Schalenhaut.

623. Amphibien. Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

Die Paarungszeit ist bei: Triton alpestris März bis Mai; T. cristatus April bis Juni; T. taeniatus Mai; Rana esculenta Mai und Anfang Juni; R. temporaria März; Pelobates fuscus Anfang April; Bombinator igneus Mai und Juni; Alytes obstetricans zweimal im Jahre (Frühjahr und Herbst); Bufo vulgaris und variabilis April; B. calamita im Frühjahr, zuletzt unter den Kröten (vgl. darüber auch Franke A., 81).

624. Um sich Material zu sammeln, welches für Beobachtungen mit der Lupe namentlich geeignet ist, aber auch das spätere Zerlegen in Schnitte zuläfst, verfahre man so, dafs man kleinere Eiportionen, Eier samt Schleimhülle, in eine $^1/_8{}^0$oige Chromsäure (viel Flüssigkeit) einlegt. Nach 24 Stunden wasche man im fliefsenden Wasser ebenso lange, die Schleimhüllen werden dabei sehr locker und lassen sich mit Pincetten anfassen und entfernen.

625. Oft kann man auf diese Weise eine grofse Menge Eier, die dann blofs mit der Eihaut überzogen sind, erlangen. Die Eihaut liegt dem Ei nicht dicht an, sondern es ist zwischen dem Ei und der Eihaut ein hier mit Wasser gefüllter Raum vorhanden. Die Eihaut ist sehr gespannt. Sticht man diese, am besten mit einer glühenden Nadel an, so kollabiert sie sofort und wirft kleine Falten; solche Fältchen können mit feinen Pincetten angefafst, zerrissen und entfernt werden.

So geschälte Eier müssen weiter mit grofser Vorsicht behandelt werden, und man kann sie zweckmässig successive in 50-, 60-, 70-, 80%igen Spiritus übertragen.

Solche Eier geben prägnante Bilder für auffallendes Licht, eignen sich aber weniger gut für Durchschnitte.

626. Eine zweite Methode ist folgende:

Man behandle die Eier mit einem auf ca. 90° C. gewärmten Wasser etwa 5 Minuten. Dann kühle man die Eier rasch ab, indem man zu dem warmen Wasser kaltes hinzugiefst, und schält nun die Eier also: Man fafst die Schleimhülle mit einer Pincette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt bei einer gewissen Übung den Eiraum zu eröffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei heraus. Das so auspräparierte Ei wird nun mit Spiritus von allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt. Hertwig O. (83).

627. Um die Schleimhülle zu entfernen, verfährt Whitman (88) folgendermafsen:

Eine 10%ige Lösung des Natriumhypochlorid wird mit 5 bis 6 Teilen Wasser vermengt. Die durch Hitze oder anders abgetöteten Eier kommen in diese Lösung so lange, bis sie aus der Schleimhülle herausfallen.

628. Die mit Chrom-Osmium-Essigsäure beispielsweise fixierten Eier können auch, nachdem sie gut mit Wasser

gewaschen worden sind, in eine aufs 3—4fache verdünnte Lösung von aqua Javelli kommen. In dieser verbleiben sie 1/4—1/2 Stunde, während welcher Zeit das Gefäfs einigemal geschüttelt wird; die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und allmählich in stärkeren Spiritus übergeführt. (Blochmann, 89).

Auch Eier von Tritonen, die einzeln an Grashalmen etc. abgelegt werden, lassen sich mit gutem Erfolg in derselben Weise fixieren und weiter behandeln.

Zur Fixierung geschälter Amphibieneier ist die Sublimatchromsäure (siehe § 107) geeignet.

629. Fick R. (93b) verfährt folgendermafsen: Die Eier werden mit den Hüllen in Chrom-Essigsäure (25 ccm 1% Chromsäure + 75 ccm Wasser + 0,1 Eisessig) 24 Stunden fixiert, geschält, 24 Stunden in fliefsendem Wasser belassen, entwässert (60%iger, dann 80%iger Spiritus je 24 Stunden) mit alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden gefärbt, mit salzsaurem 70%igem Alkohol ausgezogen, 90%iger Spiritus, Bergamottöl (2—4 Stunden, nicht länger), Paraffin 50° Schmelzpunkt 1/2 bis 1 Stunde (nicht länger, sonst werden die Eier hart und brüchig), schneiden 10—15 μ dick. — Vergl. O. Schultze, 87.

630. Barfurth (93) empfiehlt Einlegen in Wasser von 80° C. für einige Minuten oder in Chromessigsäure (Flemming) von derselben Temperatur. Mit letzterer Methode fixierte Eier wasche man 24 Stunden mit Wasser, schüttle, wobei die Gallerthülle weggeht. Oder man behandle mit Eau de Javelle der Apotheke, welches man auf das dreifache verdünnt (im Brütofen rascher, wie bei Zimmertemperatur), wobei bei vorsichtiger Bewegung des Glases die Hülle bald ganz entfernt wird. Vorsicht nötig; Materialverlust! — Weitere Behandlung wie nach Fick-Schultze, siehe § 629. — Objekte in den Hüllen werden am besten konservirt (nach Abtöten in Wasser von 80° C.) in: Alkohol 125, Glycerin 25, Wasser 350; geeignet für Zeichnen und Demonstrieren.

631. Bei Wilhelm Roux's Methoden zur Erzeugung halber Froschembryonen kommt es darauf an, nach der ersten Furchung durch Anstechen der einen der beiden Furchungszellen mit einer heifsgemachten Nadel die Tötung blofs dieser einen der beiden Furchungszellen hervorzubringen, ohne die andere mitanzustechen oder mitanzusengen. Genaue Vorschriften zu diesem Verfahren findet man bei Roux (94).

632. Reptilien. Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen (resp. Schlangen) an, denen man nach geeigneter Tötung die Eier entnehmen kann. Die Tiere legen die Eier in ziemlich frühem Stadium ab und man findet bei der Mauereidechse namentlich sehr oft junge Stadien.

	Paarung	Geburts-, resp. Legezeit
Lacerta agilis . .	Mai bis Juni	
» muralis . .	April	Juli
» vivipara .	Ende April	Mitte Juli
Anguis fragilis . .	Mai	August (sogar Oktob.)
Pelias berus . . .	Anfang April bis Mai	Ende August bis Anfang September
Coronella austriaca	Mitte April	Ende August bis Anfang September
Tropidonotus natrix	Mitte Mai	Mitte Juli bis Ende August

(Vergl. darüber auch Franke, A [81]). Selbstverständlich ist hierbei der Standort, von welchem die Tiere bezogen werden, auch zu berücksichtigen.

633. Man erzielt die besten Resultate, wenn man frisch unter physiologischer Kochsalzlösung die Schalenhaut entfernt, was man nicht allzuschwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pincette das Ei so faſst, daſs sich eine niedrige Falte bildet. Diese wird nun mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches gewöhnlich mit dem Platzen der Dotterhaut, resp. Ausflieſsen des Dotters (das Ei geht dabei zu Grunde) endet.

634. Ist es dagegen gelungen, das Ei, ohne es zu verletzen, von den Eihüllen zu befreien, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen und als solche eignet sich am bequemsten eine $^1/_8$%ige Chromsäurelösung 24 Stunden, Pikrin-Schwefelsäure 5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe § 111 und 619) 1—$1^1/_2$ Stunden oder Sublimat-Chromsäure (siehe § 107) 2 Stunden. Nach dieser Frist werden die betreffenden Eier in destilliertes Wasser übertragen und die Area embryonalis resp. vasculosa, wenn man keine speziellen Zwecke im Auge hat, mit einer scharfen spitzen Schere umschnitten und dann mittels eines Hornlöffels in Alkohol übertragen (nach Sublimat mit Jodzusatz).

635. In späteren Stadien der Entwicklung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läſst sich der Keim allein nach Abhebung der Dotterhaut, welche Operation bei den Reptilien keine Schwierigkeit zu machen pflegt, entfernen.

636. Bei den jüngeren Stadien entferne man den Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter. Nach der Chromsäure wäscht man die Keime längere Zeit bis 24 Stunden mit oft zu wechselndem Wasser

aus, nach Pikrinsäure und Sublimat wende man in gewöhnlicher Weise Spiritus an.

637. Eine recht (für den Anfänger namentlich) bequeme Methode, die übrigens keine schlechten Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in Pikrinessigsäure (konzentrierte wässerige Pikrinsäure wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1% Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet]) auf 24 Stunden.

Hierauf überträgt man die Eier in destilliertes Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pincette und Schere, was mit grofser Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und Herausschneiden des Embryo resp. Keims, ist wie die oben angegebene.

638. Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte Eidechsen- und namentlich Schlangeneier, diese letzteren enthalten stets spätere Entwickelungsstadien, Embryonen, die korkzieherförmig gewunden sind, an denen man Pulsation des Herzens u. s. w. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Embryonen darin brauchen aber nicht tot zu sein. Im feuchten Moos oder Ähnlichem nehmen die Eischalen die ursprüngliche Spannung an, und es läfst sich mit Pincette und Schere unter Kochsalz die Schale entfernen. Solche Embryonen sind bedeutend resistenter geworden, man kann sie durch passendes Umschneiden im Kochsalz isolieren und wie oben angegeben weiter behandeln.

639. Junge Reptilieneier (Befruchtung, Furchung; erstere Stadien sind an den dünnen, leicht mit zwei Pincetten abziehbaren Eihüllen kenntlich), die man bisweilen im Eileiter findet, fixiere man wie oben angegeben nach dem Schälen und übertrage sodann die ganzen Eier in 70%igen Spiritus. Nach 24 Stunden bringe man die Eier in 80%igen Spiritus und schneide nach 2—4 Stunden die Keimscheiben vom Dotter mit dem Rasiermesser ab, indem man die Eier vorsichtig mit den Fingern fafst. Die Keimscheiben können dann weiter behandelt, mit Paraffin durchtränkt und geschnitten werden, Stück- oder Schnittfärbung (siehe § 657).

640. Eine Methode, welche uns im Sommer 1893 sehr gute (erprobt an Blindschleichen und Eidechsen) Resultate ergeben hat, namentlich in Bezug auf die Ausnützung des Materials, ist die folgende: 2—3 Stunden Sublimat-Eisessig (5%), dann übertragen in eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser 8—12—24 Stunden, es wird in Wasser geschält und entweder ganze Eier oder abgelöste Embryonen, in 70%igen Spiritus übertragen, dann in gewöhnlicher Weise weiter behandelt. Materialverlust ist bei einiger Übung sehr gering, das Färben *mit* Boraxkarmin, Hämalaun im Stück gelingt stets, die

Konservierung ist tadellos. — Wir heben ausdrücklich hervor, daſs sich sehr junge Stadien auf diese Weise ebenfalls behandeln lassen.

641. Das bequemste Material zur Untersuchung von **Vogeleiern** sind die Hühnereier, von denen nur die ersten Furchungsstadien schwer zu bekommen sind. Die Furchung des Hühnereies geht parallel mit der Bildung des Eiweiſses und der Schalenhäute (resp. Schalen) im unteren Abschnitt der Tube und im sogen. Uterus u. s w. vor sich. Das Ei wird abgelegt im Stadium des durchfurchten Keims, wenn sich eben die Keimblätter anfangen zu bilden (einzelne Vögel, z. B. Kanarienvögel, legen die Eier in viel jüngeren Stadien ab, Rauber, 76). Die weitere normale Entwickelung geht auſser dem Mutterleibe bei Luftzutritt bei einer höheren (37—40° C.) Temperatur (Bruttemperatur) vor sich. Das Brüten kann entweder der Henne überlassen werden oder in einem gewärmten Raume vor sich gehen. Ein beliebiger Thermostat (siehe § 130), auf die geforderte Temperatur geheizt, kann diesem speziellen Zwecke dienen und in einen Brutofen umgewandelt werden. kann also in bequemer Weise alle möglichen Entwickelungsstadien erlangen.

642. Am leichtesten sind die Keimscheiben vom Ende des zweiten Brütetages an zu präparieren. Zunächst wird die Eischale am stumpfen Pol, wo sich der Luftraum befindet, aufgeschlagen, die Schalenhaut mit einer Pincette eröffnet und das Eiweiſs zum Ausflieſsen gebracht, während man mit einer starken Schere die Schale entfernt. Man hat dabei auf die Chalazen zu achten und dieselben erst an der einen Seite und dann an der andern Seite abzuschneiden, indem man sie mit dem Eiweiſs durch passendes Neigen und Drehen des Eies zum Ausflieſsen bringt. Hat man die Schale so weit umschnitten, bis man dicht an der Dotterhaut angelangt ist, wobei das meiste Eiweiſs bereits entfernt wurde, so gieſse man den Dotter sehr vorsichtig entweder in eine indifferente Flüssigkeit, z. B. eine auf die Bruttemperatur erwärmte ¾%ige Kochsalzlösung oder direkt in die fixierende Flüssigkeit. Ist das erstere der Fall, so ziehe man vorsichtig mit der Pincette die Reste des Eiweiſses in der Region der Keimscheibe weg, man beobachte frisch, was zu sehen ist, Pulsation des Herzens etc., und umschneide mit einer scharfen Schere den Keim um den Sinus terminalis. Die Dotterhaut, falls sie nicht von selbst abgegangen ist, wird durch sanftes Anfassen derselben mit Pincette entfernt, und der Keim auf einem Spatel oder einem Uhrschälchen aufgefangen, die Kochsalzlösung möglichst abgegossen und die Fixierungsflüssigkeit tropfenweise auf den Embryo selbst gebracht.

643. Als Fixierungsflüssigkeit kann man bei Vogel-Embryonen mit Erfolg Chromsäure, Salpetersäure, Pikrinschwefelsäure u. s. w. anwenden.

Man kann aber auch folgendermafsen verfahren: Der Dotter, mit möglichst wenig Eiweifs, wird in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. In dieser koagulieren die Reste des Eiweifses allmählich und werden mit Pincette, resp. Pinsel entfernt, bis die glatte, glänzende Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen blofsliegt. Das Ei wird in dieser Fixierungsflüssigkeit, je nach derselben, längere oder kürzere Zeit belassen, z. B. in Chromsäure 24 Stunden, in einer 3- bis 5%igen Salpetersäure 2—3 Stunden, Pikrinschwefelsäure 3—4 Stunden. Nach dieser Zeit werden die Keime ganz oder in älteren Stadien um den Sinus terminalis umschnitten, die Dotterhaut durch Schütteln des Keims in einer Uhrschale, resp. durch sanftes Ziehen mit der Pincette entfernt; die Objekte aus der Chromsäure werden mit Wasser gewaschen und die aus der Salpeter- und Pikrinschwefelsäure in 70%igen Spiritus nach den bekannten Regeln übertragen.

644. Die Keime können gefärbt und geschnitten, resp. geschnitten, aufgeklebt und gefärbt werden.

645. Solche Keime, die man vorher gefärbt hat, kann man aber auch als Übersichtspräparate ganz einschliefsen, indem man die gefärbten Keimscheiben vorher entwässert und durch Xylol in Canadabalsam überführt. Man unterlasse nie, der Dicke des Keims entsprechend, dicke Schutzleisten anzuwenden; ohne diese Vorsicht werden die Keimscheiben stark platt gedrückt und die Organe verschoben.

646. Ganz instruktive Bilder erhält man, wenn man zu der Salpetersäure von der eben angegebenen Konzentration 5—10 ccm einer 1%igen wässerigen Silbernitratlösung auf 100 ccm hinzusetzt. Es erscheinen dabei sehr reine Silbergrenzen.

Die angegebenen Verfahren werden bei gröfseren Embryonen etwas modifiziert werden müssen, und ebenso bei ganz jungen Stadien.

647. Bei diesen letzteren ist die Anwendung des Sublimats nicht zu umgehen. Möglichst vom Eiweifs befreite Dotter kommen in eine konzentrierte Sublimatlösung auf circa zwei Stunden, die Keimscheibe wird rasch mit dem darunter liegenden Dotter umschnitten und sehr vorsichtig mit einem Löffel abgehoben. Die weitere Behandlung siehe Sublimat. Stückfärbung mit Boraxkarmin ist in diesem letzteren Falle sehr zu empfehlen.

648. Sonstige Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind infolge der besonderen Zähigkeit des Eiweifses sehr schwer zu behandeln. z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

649. Säugetiere. Die Embryonen, die man zum systematischen Studium am leichtesten bekommt, sind die des Kanin-

chens und des Meerschweinchens. Am meisten Übung und Sorgfalt in der Fixierung erfordern die noch nicht angehefteten Eier. Die trächtigen Uteri werden unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit sorgfältig aufgeschnitten, mit Nadeln (man nehme eine mit Wachs ausgegossene Schale) aufgesteckt und die Oberfläche des Epithels, falls die zu erwartenden Stadien jung, resp. die Eier klein sind, wird auf das Sorgfältigste mit einer Lupe untersucht. Sind die Eier so aufgefunden worden, so kann man die indifferente Flüssigkeit mit einer Pipette aufsaugen und mit einer fixierenden vertauschen, oder aber die Eichen selbst können mit einem kleinen Löffelchen aufgefangen und in die fixierende Flüssigkeit übertragen werden.

650. Als Fixierungsflüssigkeit benütze man die Pikrin-Schwefelsäure bei jungen Stadien (Primitivstreifen, einige Urwirbel) ¡1—2 Stunden, worauf die Eier, wie andere Objekte, weiter behandelt werden. Da die Keimblase aber gewöhnlich schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere sofort nach der Trübung zu umschneiden.

651. Auch schwache Osmiumsäure, etwa $^1/_8$%ige oder Osmiumsäure-Gemische (siehe § 96) führen hier zum Ziel. Spätere Stadien, wenn der Embryo deutlich mit unbewaffnetem Auge sichtbar ist, die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse der Lage und der Eihäute des Embryo vorausgesetzt, sind leichter zu behandeln; man gewöhne sich nur, stets unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit zu präparieren.

652. Kleinere Uteri trächtiger Tiere, Mäuse, Fledermäuse etc. können samt dem Inhalt am besten mit Pikrin-Schwefelsäure, aber auch Sublimat nach den bekannten Regeln fixiert werden. Die den Embryonen entsprechenden Anschwellungen des Uterus werden in toto durchtränkt und in Schnitte zerlegt, am zweckmäfsigsten senkrecht auf die Längsachse des Uterus.

Da die Muscularis des Uterus sehr hart ist, so kann sie unmittelbar vor dem Schneiden in Paraffin mit einem scharfen Skalpell oder Rasiermesser entfernt werden.

653. Die Tube der Mäuse und namentlich der Fledermäuse ist sehr durchsichtig, und wenn man ein frisches corpus luteum bemerkt und am Uterus nichts Verdächtiges findet, so unterlasse man nicht, die Tubenfältchen auf die angegebene Weise (siehe § 609) auszugleichen und in einer indifferenten Flüssigkeit mit einer mittleren Vergröfserung (etwa 70mal) sich genau anzusehen. Hat man das Glück gehabt, ein sehr junges Ei, etwa im Furchungsstadium anzutreffen, so trachte man, dasselbe aus der Tube herauszubekommen, und zwar in der Weise, dafs man die Tube in Stücke zerschneidet. Schon die Kontraktionen der Muskulatur pressen solche unverletzt heraus, oder man hilft sich damit, dafs man solche Stückchen von

einem Ende zum andern streicht, wobei die Eier ebenfalls frei werden. Solche Eier kann man, was nicht leicht ist, nach derselben Methode wie reife Follikeleier behandeln und dauernd einschliefsen.

654. Sehr leicht ist das Behandeln der Meerschweinchen-eier, und zwar vom 10.—15. Tage und darüber. Spannt man die Anschwellung des Uterus, die den Embryo enthält, mit Nadeln, schneidet die Muscularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt alsdann vorsichtig die weiche Decidualschicht unter der fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt, so tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor und kann ohne weiteres fixiert werden.

Jüngere, kleinere Anschwellungen können samt den Eiern, wie oben die der Mäuse mit Pikrinsäure (siehe § 110) behandelt werden.

Ohne besondere Schwierigkeiten kann man spätere Stadien der Schafe aus den Schlachthäusern sich verschaffen, aber möglichst unmittelbar nach dem Schlachten, denn schon nach wenigen Stunden verändern sie sich sehr stark, ja, jüngere Stadien zerfallen, resp. werden unbrauchbar.

655. Um freie kleine Eier, die im frischen Zustande sehr wenig resistent und vollkommen wasserklar sind, leichter aufzufinden, kann man in den Uterus vor dem Eröffnen z. B. eine 3%ige Lösung von doppelchromsaurem Kalium injizieren und erst, nachdem die Eier fixiert und undurchsichtig geworden sind, den Uterus unter derselben Flüssigkeit vorsichtig aufschneiden, aufstecken, die Eier aufsuchen und weiter behandeln.

656. Wie schon für Fische angegeben wurde, ist es von der gröfsten Wichtigkeit, falls man nicht die geeignete Zeit dazu hat, Eier, Keimscheiben und Embryonen auch der übrigen Klassen sofort zu untersuchen, diese möglichst bald zu färben und geeignet orientiert mit Paraffin zu durchtränken; thut man es nicht, so läuft man Gefahr, dafs die Objekte brüchig bis zur Unbrauchbarkeit werden und noch dazu sich nicht färben lassen.

657. Was die **Färbung embryologischen Materials** anbelangt, so empfehlen sich im allgemeinen als Kernfärbemittel Hämatoxylin und Karmin (Borax- und Alaunkarmin); weniger geeignet sind hierfür die kernfärbenden Anilinfarben. Sehr gute Dienste leistet hier auch die Doppelfärbung nach Hämatoxylin mit Eosin oder Pikrinsäure, und nach den Karminen mit Pikrinsäure; bei Befruchtungsstadien versuche man die Doppelfärbung Karmin (im Stück) -Hämatoxylin (im Schnitt); bei mit Flemmingscher Lösung fixierten Objekten greife man zu *Safranin*. — Bei Anwendung der Karmine erhält man für nicht *zu grofse* Embryonen mit Stückfärbung sehr gute Resultate.

658. Die **Spermatozoen** und deren Bewegungen kann man frisch untersuchen. Eine aus den Samenwegen oder einem frisch gemachten Schnitt durch einen Nebenhoden entnommene geringe Menge Samenflüssigkeit wird mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und direkt eventuell auf dem heizbaren Objekttisch beobachtet.

Spermatozoen von Salamandra atra und maculosa lassen mit Leichtigkeit schon bei mittlerer Vergrößerung alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spieß, Kopf, Mittelstück, Schwanz, undulierende Membran, Randfaden etc.) erkennen. Man vergesse nicht, Wasser zuzusetzen; dieses sistiert bald die Bewegungen. Schwache Säuren und Alkalien wirken ähnlich wie bei der Flimmerbewegung.

659. In den Spermatozoen färbt sich mit dem Reagens auf Centrosomen, der Metallsalzhämatoxylinfärbung lediglich das Verbindungsstück schwarz. Bei dieser Färbung kommt es nicht auf die Anwendung des Ferriammonsulfates an, sie gelingt auch mit anderen Eisensalzen, sowohl mit Ferri-, als mit Ferroverbindungen, sowohl mit Sulfaten, als mit Chloriden, ja auch mit anderen Metallsalzen, z. B. Kupfersalzen. Fick R. (93a).

660. Spermatozoen, entnommen Kadavern, welche unter besonderen Cautelen im Wasser gelegen haben, zeigen Fibrillen des Achsenfadens. Ballowitz E. (88).

661. Hoden. Für die erfolgreiche Untersuchung der Spermatogenese ist die Wahl des Materials von großem Belang (Jahreszeit, Alter, Größe der Elemente). — Die Hoden dürfen nie vor der Fixierung zerstückelt werden, weil dies durch Hervorquellen der Samenkanälchen zu starken Dislokationen führt. Hermann (93).

662. Orientierungspräparate beschafft man sich dadurch, daß man kleinere Hoden oder kleine Stücke größerer in gewöhnlicher Weise etwa mit Sublimat oder Pikrinsäure fixiert. Für die feineren histogenetischen Vorgänge ist die Flemmingsche Lösung auf kleine Hoden oder kleine Stücke größerer in angegebener Weise (siehe § 96) anzuwenden; nachträgliche Färbung auf dem Objektträger mit Safranin.

663. Mit sehr gutem Erfolge wendet man die von Hermann (93) empfohlene Flüssigkeit:

für Säugetiere 1%iges Platinchlorid 15 g
2%ige Osmiumsäure 4 g
Eisessig 1 g.

für Salamander 1%iges Platinchlorid 15 g
2%ige Osmiumsäure 2 g
Eisessig 1 g an.

Man lasse die Flüssigkeit auf nicht zu grofse Stücke 24 Stunden lang, besser länger (wie bei Flemmingscher Lösung) einwirken, wasche mit Wasser aus und entwässere mit Alkohol von allmählich steigender Konzentration 50, 70, 90%.

So fixierte auf dem Objektträger aufgeklebte Paraffinschnitte können entweder mit Safranin allein nach der Formel

1 g Safranin,
10 ccm abs. Alkohol,
90 ccm Anilinwasser,

24—48 Stunden lang gefärbt und dann mit Wasser abgespült, saurem Alkohol und Alkohol absol. (siehe § 250) behandelt oder nach einer solchen Färbung nach der Gramschen Methode nachgefärbt werden, d. h. auf 3—5 Minuten in Gentianaviolettlösung (gesättigte alkoholische Lösung 5 auf 100 Anilinwasser [Anilinöl 4 wird mit 100 ccm dest. Wasser geschüttelt und filtriert]) gefärbt, in Alkohol flüchtig abgespült und mit Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 1—3 Stunden behandelt werden, bis die Schnitte vollkommen schwarz werden; nun werden sie in Alkohol übertragen, bis die Schnitte violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Die Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium erscheinen blau-violett, die echten Nukleolen rot tingiert. Im Aster-Dyasterstadium dagegen färbt sich das Chromatin rot u. s. w.

Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun tingiert. Die Köpfe, die Mittelstücke, Schwänze, Spiralfäden etc. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben rotblau, violettblau etc.

Hermann (91) legt ganz kleine Objekte (z. B. Proteushoden) in: Hämatoxylin 1 g, absoluten Alkohol 70, Wasser 30 auf 12—18 Stunden im Dunkeln. Auswaschen in 70%igem Alkohol im Dunkeln. Paraffinschnitte, Ausziehen mit ganz hellrosa Kaliumpermanganat, bis sie ockerfarbig werden, weitere Entfärbung mit 5—10fach verdünntem Palschen Gemisch. Safranin 3—5 Minuten. Besonders geeignet zur Hervorhebung der achromatischen Elemente, Zentral*körper etc.*

664. Um Spermatozoen aufzubewahren, kann man sich Trockenpräparate, wie bei Blut (siehe § 331) anfertigen und die so angeklebten Spermatozoen färben, z. B. mit Safranin u. s. w. Frisches Sperma läfst sich auch mit Osmiumsäure räuchern (siehe § 92).

Fertige Spermatozoen sind sehr resistent gegenüber verschiedenen Reagentien und lassen sich deshalb leicht konservieren.

665. Für das Studium der Spermatogenese empfiehlt Benda (87b) folgendes Verfahren; In Flemmingscher Lösung konservierte Hodenstücke werden geschnitten, aufgeklebt und 24 Stunden im Thermostat auf 38—40°.C. in einer sehr starken Lösung von Kupferoxyd gelassen. Sie werden nun sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und kommen in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung, bis sie intensiv schwarz werden, was etwa 5 Minuten in Anspruch nimmt. Sie kommen in eine 1/8%ige wässerige Salzsäurelösung, bis die Schnitte gelb werden, und aus dieser in die Kupferlösung zurück, worin sie so lange bleiben, bis sie violettblau werden. Dann werden sie mit destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol behandelt und in Canadabalsam übergeführt.

16. Kapitel.

Haut, Haare und sensible Nervenendigungen in der Haut.

666. Die Haut des Menschen (Affen) mufs der der anderen Säugetiere für die Untersuchung vorgezogen werden. Da diese in der Regel erst nach vielen Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommt, so ist es ziemlich gleichwertig, wie sie fixiert wird, Müllersche Flüssigkeit, allmählich stärkerer Alkohol.

Das Schneiden der Haut ist mit vielen Schwierigkeiten verknüpft und man kann gröfsere Stücke derselben nur in Celloidin schneiden. — Mittelgrofse und kleinere Stücke der Haut lassen sich aber auch in Paraffin schneiden; hierbei mufs aber folgendes berücksichtigt werden: die Haut mufs möglichst rasch in Paraffin eingeschlossen werden, d. h. sie darf weder in Alkohol, noch in Toluol etc. lange verweilen. Das zum Schneiden verwendete Paraffin mufs von der weichsten, das Schneiden eben noch zulassenden Sorte sein (etwa von 50° Schmelzpunkt).

Um von der Haut gute Paraffinschnitte zu erhalten, verfährt Barlow (95) folgendermafsen: Die in Osmiumsäure oder in Flemmingscher Lösung fixierten Stücke werden

in 96% Spiritus aufgehoben, dann auf höchstens 24 Stunden in abs. Alkohol übertragen und durch Chloroform in Paraffin übergeführt. In Chloroform bleiben sie etwa 1 Stunde und ebenso lange in Chloroform-Paraffin und auch 1 Stunde in reinem Paraffin. Die Paraffinsorte wird am zweckmäfsigsten so zusammengesetzt, dafs man $^2/_3$ Paraffin von 42—45° Schmelzpunkt und $^1/_3$ Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt nimmt. Den Thermostat erwärme man auf 50° C.

Auf dem Objektträger dürfen die Schnitte nicht mit Eiweifs, sondern am besten mit Wasser festgeklebt werden, da schon beim Erwärmen, oder nach einer Behandlung mit Säuren, ja schon bei der Berührung mit Wasser die von Paraffin befreiten Schnitte sich werfen.

667. Epidermiszellen des Stratum corneum können abgeschabt und nach § 298 untersucht werden.

668. An einer frischen Epidermis, die mit Überosmiumsäure fixiert und geschnitten wurde, differenziert sich das Stratum corneum in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere.

669. Das Stratum lucidum an in Alkohol, Chromsäure (gut ausgewaschen) und an in Müllerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten färbt sich mit Pikrokarmin gelblich.

670. Im Stratum granulosum lassen sich die **Keratohyalinkörner** durch Karmin (resp. Pikrokarmin), Safranin, Hämatoxylin färben. Von diesen sind zu unterscheiden die **Eleïdintropfen**, welche sich mit zahlreichen fettfärbenden Substanzen (Alkanna, Osmiumsäure, spritlöslichem Nigrosin), dagegen nicht mit Hämatoxylinen tingieren (vgl. Buzzi in Ledermann und Ratkowski 94).

671. Einige Eigenschaften der Keratohyalinkörner entnehmen wir den Untersuchungen Waldeyers (82):

Sie lassen sich intensiv mit Karmin und Hämatoxylin imbibieren. In 1- bis 5%iger Kalilauge quellen die Körner in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, worin sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert, und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter- und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner *längere Zeit* unverändert; da die Essigsäure die Epithelien

rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese ähnlich wie Ammoniak vorteilhaft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die gröfseren Schollen durchsichtiger und läfst sie aufquellen. Überhaupt sind die gröfseren Körner weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol, Chloroform und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glycerin-Pepsin-Extrakt und Trypsin lösen sie sich auf.

672. Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii (spinosum) zu einander sind an dünnen Schnitten wahrzunehmen. Vergl. § 314.

673. Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii isolieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in einer wässerigen, in der Kälte gesättigten, filtrierten Lösung von Pancreatinum siccum auf 3—4 Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum maceriert. Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glycerin-Wasser-Alkohol zu gleichen Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schiefferdecker 86).

674. Cutis und die Papillen derselben werden an in Flemmingscher Lösung, Überosmiumsäure und Sublimat (nachfärben mit Boraxkarmin) fixierten Präparaten untersucht. (Die Darstellung der Nervenendapparate in den Papillen siehe § 683). An solchen Schnitten sind die Schweifsdrüsen (glatte Muskeln derselben!) gut erhalten (sehr grofs z. B. in der Achselhöhle des Menschen). Das Bindegewebe der Cutis wird nach der im § 361 angegebenen Methode dargestellt.

675. Für die Darstellung **elastischer** Elemente der Cutis zählen wir folgende Methoden auf:

Die Orcëinmethode (Taenzer) nach Unna (91):

Orcëin 0,1,
95%iger Alkohol 20,0,
Aqua dest. . . 5,0

wird zur Hälfte verdünnt (eventuell das Mischungsverhältnis ausprobieren, bei welchem die elastischen Fasern sich gesättigt dunkelbraun von dem weit schwächer gefärbten übrigen Gewebe abheben) mit

Acid. mur. . . 0,1,
95%iger Alkohol 20,0,
Aqua dest. . . 5,0,

darin färben 24 Stunden, dann kurz (circa 1/2 Minute) differenzieren in angesäuertem 95%igem Alkohol (eventuell Kernfärbung mit Hämatoxylin oder Methylenblau), absoluten Alkohol, Xylol, Canadabalsam.

676. Nach Stöhr und O. Schultze färbt Safranin, nach der Methode von Flemming für Kernfärbung angewendet, auch elastische Fasern der Haut und der Gefäfse rot.

677. Nach Martinotti kommen frische Gewebstücke von 2—3 ccm in eine 2%ige Lösung von Arsensäure auf 24 Stunden; dann auf 5—15 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, dann in folgende Lösung: 2 g Silbernitrat werden in 3 ccm destillierten Wassers gelöst und 15—20 ccm reines Glycerin zugefügt. Nach 24 Stunden wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol gebracht und in diesem geschnitten. Die Schnitte kommen ganz kurz in eine physiologische Kochsalzlösung, dann in absoluten Alkohol, Kreosot, Canadabalsam.

678. Um nach der Färbung mit der Martinottischen Methode die elastischen Fasern rein schwarz, resp. den Grund farblos zu erhalten, empfiehlt Ferria, die Schnitte eine kurze Zeit in Ätzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen.

679. Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Macerieren in Kalilauge (von 33% unter Erwärmen, oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur) oder Natronlauge; mit Schwefelsäure konzentriert oder verdünnt, erzielt man ähnliche Resultate; auch Ammoniak (wochenlange Maceration) führt zum selben Ziel. — Man erwärmt das Haar mit Schwefelsäure in einem Uhrschälchen, bis sich das Haar zu krümmen beginnt und untersuche alsdann in Wasser: Rinden und Markschicht zerfallen in ihre Bestandteile, das Haaroberhäutchen ebenfalls.

680. Für die Untersuchung der **Haare** und deren **Wurzelscheiden** verwende man mit Müllerscher Flüssigkeit oder mit Alkohol fixierte Objekte, welche beliebig gefärbt und so geschnitten werden, dafs die Haare entweder genau quer oder längs (das Orientieren macht oft Schwierigkeiten) getroffen werden.

681. Will man aber verschiedene Teile der Haare und der Haarwurzelscheiden in verschiedenen Farben zur Dar-

stellung bringen, so gibt es kaum ein empfehlenswerteres Mittel als die Indigokarmin-Karmin-Lösung von Norris und Shakespeare (siehe § 258).

Die in dieser Weise tingierten Schnitte liefern folgendes differenziertes Bild. Die äufsere Haarwurzelscheide ist mit Karmin tingiert, die Henlesche Schicht erscheint glänzend hellgrün, die Huxleysche Schicht dunkelblau-violett, das Oberhäutchen der inneren Wurzelscheide und das des Haares sind auch von einander durch Färbungen zu unterscheiden, das letztere ist grünlich. Die Markzellen des Haares färben sich lebhaft mit Karmin.

Jodmethylviolett färbt besonders leicht die innere Haarwurzelscheide (Unna).

»Es giebt wohl kaum ein Körpergebilde, welches sich besser für die reiche Skala der Teerfarben eignet, wie Haar und Haarbalg«. Fr. Merkel, Ergebnisse B. I., S. 226. (92).

682. Sensible Nervenendigungen der Haut. Wir beschränken uns auf die Darstellungsweise weniger sensibler Nervenendapparate; Meifsnersche, Herbstsche, Grandrysche, Vater-Pacinische Körper, Nerven der Epidermis und die mit Tastscheiben. Diese haben wir aus der grofsen Zahl der bereits bekannten herausgegriffen, weil sie leicht zugänglich sind und ohne besondere Schwierigkeiten zur Ansicht gebracht werden können und weil sie von allen Typen der sensiblen Nervenendigungen eine Vorstellung zu geben geeignet sind.

683. Die **Meifsnerschen Körperchen** sind an beliebig fixierten und tingierten Querschnitten durch die Papillen der Haut an denjenigen Stellen, wo sie zahlreich vorkommen, z. B. an der Volarfläche der Endglieder der Finger, ohne weiteres auf jedem Schnitt als quergestrichelte ovale Körper in denselben zu erkennen.

684. Eine alte, noch immer gute Methode besteht in folgendem: Die Haut wird von der Endphalanx der Finger oder Zehe abpräpariert und einige (bis 10) Minuten gekocht. Das Wasser samt dem Hautstück läfst man kalt werden, dann nimmt man es heraus. Es läfst sich nun die Epidermis abziehen; auf dem Cutisstück sieht man mit der Lupe intakte Papillen, die man mit einem Rasiermesser abtragen kann. Diese Papillen werden auf einem Objektträger deponiert, mit einer etwa 3%igen wässerigen Eisessiglösung behandelt und mit einem Deckglase bedeckt. Nach einer Stunde bereits sieht man in vielen Papillen Meifsnersche Tastkörperchen als ovale quergestreifte Körper und zuweilen sogar den zutretenden Nerv.

685. Will man die Ausdehnung der Markscheide der zutretenden Nervenfaser kennen lernen, so behandle man ein kleines Hautstück mit Osmiumsäure (siehe § 91) und schneide senkrecht auf die Oberfläche der Haut, um die Papillen der Länge nach zu treffen.

686. Um die Beziehungen der Nervenfibrillen zum Körperchen zu eruieren, vergolde man die Hautstücke nach der im § 457 erwähnten Löwitschen Methode.

687. Die **Herbstschen** und die **Grandryschen Körperchen** kommen in der Wachshaut des Entenschnabels und in den Gaumenleisten desselben Vogels vor. Sie lassen sich als solche bei beliebiger Fixierung und Färbung erkennen.

688. An mit Osmiumsäure behandelten Stücken sieht man den Nerv in Beziehung zu den Körperchen treten, soweit er markhaltig ist.

Als wahre Fundgrube der Herbstschen Körperchen empfehlen wir die Zunge von Spechten (Dr. Ludwig Ferdinand, Prinz von Bayern, 84).

689. Will man die Nerven weiter verfolgen, so greife man zu einer von Carrière (82) empfohlenen Böhmschen Methode: Stücke einer frischen, mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) des Entenschnabels kommen in 50%ige Ameisensäure auf 20 Minuten; sie werden mit destilliertem Wasser flüchtig gewaschen und kommen auf ebensolange Zeit (20 Minuten) in eine geringe Menge einer 1%igen Goldchloridlösung. Die Stücke werden abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen, um in eine grofse Menge (etwa 300 ccm) Prichardscher Lösung übertragen zu werden; diese besteht aus Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, destilliertem Wasser 98); in dieser verbleiben die Stücke im Dunkeln 24—36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

690. Die gröfsten und bekanntesten sind die **Vater-Pacini**schen Körperchen. Die Verbreitung derselben ist eine sehr grofse, wir erwähnen das Mesenterium der Katze als eine Fundgrube für solche; sie sind da mit blofsem Auge wahrzunehmen.

691. Die Körperchen lassen, im frischen Zustande unter das Mikroskop gebracht, vieles erkennen. Man untersuche *in physiologischer* Kochsalzlösung.

692. Will man sich überzeugen, dafs die Lamellen
ıs Endothelzellen zusammengesetzt sind, so versilbere
ıan die Körperchen nach § 308.

693. Nerven der Epidermis. Nach der Goldmethode (siehe
457) oder nach der folgenden:

694. Stückchen der Haut werden mit einer $^1/_2$%igen
rsensäure angesäuert, sie kommen sodann $^1/_2$ Stunde in
ne 1 bis 2%ige Goldchloridlösung und werden schliefslich
ı eine 1%ige Arsensäure übertragen, wo die Reduktion
folgt (Goldscheider, 86). (Objekt Tastballen).

695. Tastscheiben vom Rüssel des Schweines. Methode
ɔn Löwit (siehe § 457), hiefür empfohlen von Bonnet (78).

696. Bonnet verfährt nach einer modifizierten Weigert-
:hen Methode. Die Hautstücke werden in $^1/_3$%iger Chrom-
ıure fixiert, geschnitten, mit Hämatoxylin überfärbt und
ıit alkoholischer Lösung von rotem Blutlaugensalz bis zur
:harfen Differenzierung behandelt.

17. Kapitel.

Auge.

697. Der von Muskeln und lockerem Bindegewebe bis
ıf die Sclera befreite ganz frische **Augapfel** wird mit
üllerscher Flüssigkeit (siehe § 85) fixiert. Ein Augapfel
ɔn der Gröfse des menschlichen darf mindestens 3 Wochen
ırin belassen werden. Der Bulbus wird dann sorgfältig
ı fliefsendem Wasser ausgewaschen und in Spiritus von
lmählich steigender Konzentration übergeführt. Ist ein
uge sehr klein, so kann man es ganz durchfärben und
:hneiden.

698. Es ist von einer Paraffindurchtränkung hierbei
ɔzuraten, da Sclera und namentlich die Linse in Paraffin
.el zu hart werden. Man durchtränke daher mit Celloidin
iehe § 134). Gröfsere fixierte Augen werden unter Spiritus
ıit einer scharfen Schere durch einen äquatorialen Schnitt
öffnet, der Glaskörper entfernt und Stücke aus ver-
:hiedenen Regionen, die alle Augenhäute enthalten, heraus-
ɛschnitten und weiter bearbeitet.

699. Flemmingsche Flüssigkeit kann ebenfalls als
ixierungsmittel für das ganze Auge empfohlen werden.

700. Schnitte, welche durch die ganze Dicke des Auges
eführt sind, lassen eine allgemeine Orientierung über die

Strukturverhältnisse zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, dafür sind speciellere Wege einzuschlagen.

701. **Corneae** kleinerer Tiere, frisch ausgeschnitten, können in indifferenten Flüssigkeiten oder in der Glaskörperflüssigkeit, die man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in den Augapfel gewinnt, vor Verdunstung geschützt, untersucht werden.

702. Das **vordere Epithel** wird an Schnitten, einer mit Müllerscher oder Flemmingscher Lösung behandelten Hornhaut entnommen, studiert.

703. Als Macerations-Flüssigkeit verwende man $^1/_3$ Alkohol (siehe § 300).

704. Das **Descemetische Endothel** kann durch **Versilberung** und nachträgliche Färbung zur Darstellung gebracht werden. (siehe § 308).

705. Zur Untersuchung des Endothels der Cornea injiciert Nuel sofort nachdem das Tier getötet ist (Kaninchen oder Vogel) in die vordere Augenkammer 1—2%ige Ameisensäure, nachdem vorher Humor aqueus abgeflossen ist. Dann wird das Auge enucleïrt und 3—5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt. Dann kann man die Cornea aussschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen.

Ferner empfiehlt Nuel, das Auge ein paar Tage in der Hänselschen Flüssigkeit zu fixieren (1%ige Chromsäure 25 Vol., gesättigte Pikrinsäure 10 Vol., aqua dest. 65 Vol., Eisessig einige Tropfen). Vor dem Ausschneiden wird die vordere Fläche der Cornea mit dem Rasiermesser weggenommen, um sie möglichst dünn zu machen. Untersuchung in Glycerin mit Pikrokarminzusatz, Nuel et Cornil (90).

706. Die Grundsubstanz der Hornhaut läfst sich nach Maceration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaures Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen, Rollett (72). Um diese letzteren zur Darstellung an Schnitten zu bringen, empfiehlt es sich sehr, die Cornea zu trocknen, mit dem Rasiermesser dünn zu schneiden, die Schnitte in Wasser wieder aufquellen zu lassen und mit Pikrokarmin zu färben Ranvier (81).

707. Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus *und überträgt* dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die

Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunklem Grunde: negative Versilberung.

708. Die dickeren Hornhäute gröfserer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läfst man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz, und die Hornhaut-Körperchen werden dunkel: positive Bilder.

709. Leber (68) behandelt die Cornea eines Frosches einige Minuten mit einer $^1/_2$—1%igen Lösung eines Eisenoxydsalzes; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine 1%ige Lösung von Ferridcyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

710. Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden. (Siehe § 711).

711. Speziell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier (89) Goldchloridkalium in einer 1%igen Lösung.

Eine Froschhornhaut kommt auf fünf Minuten in Citronensaft (siehe § 459), dann auf $^1/_4$ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung; reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 ccm) angesäuertem Wasser 1 bis 2 Tage.

712. Hornhautkörperchen mit Ausläufern (deren Ausgüsse) können auch nach der Altmannschen Methode (siehe § 520) dargestellt werden.

Siehe auch Ranvier (81).

713. Die **Sclera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (§ 353 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

714. Die **Vasculosa** und **Iris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

715. Die Lymphgefäfse der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden (s. § 519).

716. An fixierten pigmentierten Augen versuche man, das Pigment mit Wasserstoffhyperoxyd zu entfernen.

Mit diesem Mittel kann man nach Unna Vielfaches erzielen. Es bleicht alle Pigmente, entfärbt Chromsäure und Osmiumsäurepräparate, sowie auch mit Hämatoxylin überfärbte

gegen Gold- und Silberniederschläge ist es unwirksam, reduziert aber frische Goldchloridpräparate augenblicklich und vollständig; schwache und starke Lösungen wirken, abgesehen vom Zeitunterschied, gleich.

Zu ähnlichen Resultaten ist Solger (83) gekommen. (Duval [78] hat im Jahre 1878 eine ähnliche Bleichmethode als eine alte, von Pouchet angegebene, erwähnt.)

717. Man kann das Bleichen der Pigmente (und zu dunkel gewordener Osmiumsäurepräparate) mit nascierendem Chlor (P. Mayer, 81) bewerkstelligen. Die zu bleichenden Objekte kommen in ein mit Alkohol gefülltes Gefäfs, auf dessen Boden Krystalle von Kalium chloricum deponiert werden. Es wird nun Salzsäure (bis 1%) zugefügt und das Gefäfs verschlossen.

718. Die **Linse** erwachsener Tiere läfst sich, es mag die Vorbehandlung sein, welche sie wolle, schlecht schneiden, in Paraffin gar nicht, am besten in Celloidin.

719. An mit starker Salpetersäure (bis 30%) macerierten Linsen lassen sich leicht die Linsenfasern isolieren.

720. Isolation der Linsenfasern mit 1/3 Alkohol. Frische Linsen werden 2 Stunden eingelegt, dann wird die Linsenkapsel durch Anstechen eröffnet, es verbleiben die Linsen noch 24 Stunden in 1/3 Alkohol; es wird nun auf dem Objektträger in Glycerin gezupft, und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet. Man studiere die verschiedenen Formen der Linsenfasern vor allem beim Fisch und Säugetier.

721. Retinae gröfserer Tiere sind an in toto behandelten Augen in der Regel mangelhaft fixiert, vermutlich, weil sie sich verändern, bis die fixierende Flüssigkeit durch die Sclera dringt. In solchen Fällen mufs die Retina nebst Chorioidea unter Kochsalz rasch nach den bekannten Regeln isoliert und dann fixiert werden, oder das Auge wird durch einen Schnitt (äquatorialen) halbiert und nach Entfernung des Glaskörpers mit fixierender Flüssigkeit behandelt.

722. Als solche sind zu empfehlen: Müllersche Flüssigkeit (1 bis 2 Wochen lang), Salpetersäure von 3% (24 Stunden, dann 70%iger Spiritus), Flemmingsche Flüssigkeit und vor allem die Osmiumsäure.

723. Diese wird nach Ranvier (89) folgendermafsen angewandt: Augen kleinerer Tiere: Maus, Triton, Frosch etc. *werden* herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus

zu drücken) mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit Osmiumsäuredämpfen 1/4 bis 1/2 Stunde geräuchert (siehe § 92).

(Gröfsere Bulbi müssen vor der Räucherung eröffnet und der Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden.) Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert, und man kann das Auge unter 1/3 Alkohol durch einen äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3 bis 4) Stunden belassen. Die hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol behandelt und in Paraffin geschnitten.

724. Ist die Sclera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

725. Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, dafs man an Querschnitten über den Bau der Zwischenkörnerschicht beispielsweise unmöglich zu einer richtigen Vorstellung gelangen kann.

726. Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Aufsenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10%ige Chloralhydratlösung anzuführen (Krause, 84).

727. Die Retinae lassen sich im allgemeinen gut färben, und die Mehrfachfärbungen liefern (aufser nach Osmiumsäurebehandlung) farbenreiche Bilder, welche für Demonstrationszwecke z. B. unter Umständen Nutzen bringen.

728. Die nervösen Elemente der Retina färbt Dogiel mit der Methylenblaumethode Ehrlichs, indem Methylenblau in das Gefäfssystem eines lebenden oder eben getöteten Tieres eingeführt, oder die Retina direkt auf dem Objektträger mit dem Farbstoffe behandelt wird. Um Schnitte anzufertigen, wird die so behandelte Netzhaut mit einem Gemisch von pikrinsaurem Ammoniak und Chromsäure resp. Alkohol fixiert und gehärtet (siehe § 491 ff.).

729. Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füfschen der Müllerschen Fasern.

Für die Retina empfiehlt Ramon y Cayal (94a) folgendes, nach Golgi modifiziertes Verfahren:

1. Eintauchen der hinteren Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in

Kaliumbichromat 3% — 20 ccm,
Osmiumsäure 1% — 5—6 ccm

auf 1—2 Tage.

2. Man trocknet dann die Stücke vorsichtig mit Fliefspapier und überträgt sie in 3/4% Höllensteinlösung auf 24 Stunden.

3. Ohne vorheriges Abwaschen kommen die Stücke in die erste Osmiumbichromatlösung. Letztere mufs etwas weniger Osmiumsäure enthalten (auf 20 ccm Kaliumbichromat von 3% etwa nur 2—3 ccm der 1%igen Osmiumsäure). 24—36 Stunden.

4. Abermaliges Einlegen in 3/4% Höllensteinlösung auf mindestens einen Tag.

Um Niederschläge auf ein Minimum zu reduzieren, empfiehlt es sich, die abgelösten Retinae vor der Behandlung aufzurollen. Um das Wiederaufrollen zu verhüten, übergiefst man die Rolle mit Collodium oder dünnem Celloidin.

730. Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Aufsenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne, Dreser, 86).

18. Kapitel.

Ohr.

731. Bei der Behandlung der schallperzipierenden Organe gebricht es beim Anfänger in der Regel an der genauen Kenntnis der Lage derselben innerhalb des Felsenbeins bei den verschiedenen Tieren. Man fange deshalb lieber mit Objekten an, die, ohne genauer makroskopisch zergliedert zu werden, eine Behandlung mit dem (von Weichteilen befreiten) Felsenbeine zulassen.

Canales semicirculares und Cochlea erzeugen bei allen Nagern scharf gezeichnete Vorsprünge im Cavum Tympani, und es ist die Möglichkeit des genauen Orientierens vor dem Schneiden dadurch gegeben. Bei gröfseren Nagern kann man vor oder nach dem Fixieren die Schnecke abmeifseln, resp. abzwicken und erst dann weiter behandeln.

732. Solche Felsenbeine werden in Müllerscher Flüssigkeit, in Flemmingscher Lösung fixiert und dann eventuell *entkalkt.*

733. Als Entkalkungsflüssigkeit ist eine 3%ige Salpetersäure und gesättigte Pikrinsäurelösung anderen vorzuziehen. Schnecken gröfserer Tiere müssen unter der fixierenden Flüssigkeit eröffnet und dann entkalkt werden. Geschnitten wird in Celloidin oder Photoxylin. (Letzteres erleichtert die Orientierung.)

734. Die Schnecke wird, nach Retzius (84) eröffnet, eine halbe Stunde mit einer ½%igen Überosmiumsäurelösung fixiert, darauf ebensolange Zeit mit ½%iger Goldchloridlösung. Es wird nicht weiter entkalkt, sondern das Cortische Organ herauspräpariert und untersucht, oder nach Entfernung von Knochen geschnitten.

735. Nach Ranvier (89) eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einem Osmiumsäuregemisch (2% gelöst in physiologischer Kochsalzlösung). Man lasse alsdann dasselbe zwölf Stunden einwirken und entkalke mit einer 2%igen, oft zu wechselnden Chromsäure. Die Entkalkung für Meerschweinchen dauert eine ganze Woche.

736. Das Cortische Organ kann nach § 742 behandelt werden (⅓ Alkohol, dann Überosmiumsäure resp. deren Dämpfe, (siehe § 92).

737. Labyrinth des erwachsenen Menschen. Wir führen hier zwei Beispiele an, die sehr befriedigende Resultate, auch was die Erhaltung des Sinnesepithels betrifft, ergaben. (A. Scheibe.)

Die Felsenbeinpyramide wird nach den üblichen Regeln abgetrennt, die Schnecke und der obere Bogengang eröffnet. Man lasse die Müllersche Flüssigkeit 3 Wochen lang einwirken, wechsle diese in der ersten Woche alle Tage einmal, dann alle zwei Tage. Es wird alsdann 24 Stunden mit fliefsendem Wasser gewaschen, in 80%igen Alkohol auf 14 Tage, in 96%igen auf ein paar Tage und in die Entkalkungsflüssigkeit — 5%ige Salpetersäure, welche täglich zu wechseln ist (§ 388) — auf 10—15 Tage übertragen. Es wird nun 2 Tage lang in fliefsendem Wasserleitungswasser gewaschen und in 80%igen Spiritus auf 24 Stunden, dann in 96%igen übertragen; im Spiritus letzterer Konzentration verbleiben die Stücke 6—8 Tage und werden mit Celloidin durchtränkt (siehe § 134) und geschnitten.

738. Auch folgende Methode hat befriedigende Resultate ergeben. Die abgetrennte Pyramide mit eröffneter Schnecke und eröffnetem oberen Bogengang wird 2 Tage

lang mit Müllerscher Flüssigkeit bei Zimmertemperatur behandelt, kommt alsdann in derselben oft zu wechselnden Flüssigkeit auf 3 Wochen in einen Thermostaten (33° C.), wird 48 Stunden in fliefsendem Wasser gewaschen, wird in 80%igen Spiritus auf 14 Tage, aus diesem in 96%igen auf 8 Tage übertragen, entkalkt u. s. w. wie in § 737, und dann mit Celloidin durchtränkt und geschnitten (siehe § 134).

Weitere Literatur für Kapitel 18: Politzer A. (89).

19. Kapitel.

Nase.

739. Um Orientierungspräparate von der **Nasenschleimhaut** zu erlangen, mufs man von z. B. in Flemmingscher Lösung fixierten, natürlich der regio respiratoria sowohl, als der regio olfactoria entnommenen Stücken Querschnitte anfertigen. Es empfiehlt sich, Schleimhautstücke der letztgenannten Region in reiner Osmiumsäure (1% siehe § 91) zu fixieren, da die Olfactoriusfasern und Fibrillen, im Gegensatz zu den Remakschen Fasern (siehe § 453) sich mit Osmiumsäure bräunen.

740. Epithelien der regio respiratoria werden mit 1/3 Alkohol (siehe § 300) isoliert.

741. Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in 1/3 Alkohol macerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden sonst vielfach verändert.

742. Um diesen Mifsständen aus dem Wege zu gehen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1 bis 2 Stunden mit 1/3 Alkohol maceriert, dann fünf Minuten bis eine Viertelstunde mit Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann im Wasser gezupft werden, die Zellen behalten ihre Form und können in Glycerin eingeschlossen werden.

743. Die Methode von Golgi, auf die Schleimhaut der Nase jugendlicher Tiere und der Föten angewendet, hat hier zur Erkenntnis der bedeutungsvollen Thatsache geführt, dafs die Riechzellen der Regio olfactoria peripher gelegene Ganglienzellen sind. (Ramon y Cajal, 94b).

Literatur-Verzeichnis.*)

Abbe, E., **78.** Über Blutkörper-Zählung. Sitzungsber. d. Jen. Ges. f. Med. u. Naturw.

Afanassiew, M., **84.** Über den dritten Formbestandteil des Blutes im normalen und pathologischen Zustand etc. Arb. Med.-Klin. Inst. Univers. München. Bd. 1, 2. Heft p. 556—592 T. 15.

Altmann, R., **79.** Über die Verwertbarkeit der Corrosion in der mikroskopischen Anatomie. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd. p. 471—507 T 21—23.

—, **92.** Ein Beitrag zur Granulalehre. Verh. Anat. Ges. 6. Vers. p. 220—223.

—, **94.** Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen, p. 1—160, 9 Figg. und 35 T. 2. Aufl. Leipzig.

Ambronn, H., **92.** Anleitung zur Benutzung des Polarisations-Mikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig.

Arnstein, C., **87.** Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. Anat. Anz. Bd. 2.

Ballowitz, E., **88.** Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32.

Barfurth, D., **91.** Über Zellbrücken glatter Muskelfasern. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. 38.

—, **93.** Die experimentelle Untersuchung über die Regeneration der Keimblätter bei den Amphibien. Anatomische Hefte 1. Abt. H. 9. (3. Bd., H. 2).

*) Enthält die im Texte zitierten Arbeiten, bei mehreren Arbeiten ein und desselben Autors entscheidet die beigesetzte Jahreszahl, eventuell bei mehreren Arbeiten aus einem Jahr a, b etc. — Wir haben weniger Wert darauf gelegt, diejenigen Arbeiten zu zitieren, durch welche neue Methoden zuerst eingeführt wurden, vielmehr beabsichtigen wir, ein Nachschlagen zu weiterer Information zu ermöglichen.

Barlow, R., **95.** Mitteilungen über Reduktion der Überosmiumsäure durch das Pigment der menschlichen Haut. D II Heft 5. Bibliotheca medica. Abt. D II.

Bayerischer Königskalender, 83. Gebr. Reichel in Augsburg.

Beale. L., **57.** How to work with the Microscope. London.

Behrens W., **Kossel** A., **Schiefferdecker** P., **89.** Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig. H. Bruhn.

Benda, C., **87a.** Ein interessantes Strukturverhältnis der Mäuseniere. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **87b.** Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Samenkanälchens einiger Säugetiere und Folgerungen für die Spermatogenese dieser Wirbeltierklasse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30.

Berkley, H. J., **93.** Studies in the Histology of the Liver. Anat. Anzeiger, 8. Jahrg., p. 769—792. 22 Fig.

Bethe, A., **95.** Angaben über ein neues Verfahren der Methylenblaufixation. Arch. f. mikr. Anat. B 44.

Blochmann, F., **84.** Über Einbettungsmethoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1.

—, **89.** Eine einfache Methode zur Entfernung der Gallerte und Eischale bei Froscheiern. Zool. Anz.

Blum, F., **93.** Der Formaldehyd als Härtungsmittel. (Vorl. Mitt.) Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. X.

—, **96.** Über Wesen und Wert der Formolhärtung. Anat. Anz. Bd. 11.

Böhm, A. A. und **v. Davidoff**, M., **95.** Lehrbuch der Histologie des Menschen einschliefslich der mikroskopischen Technik. 246 Abbild. XV. 404 pp. Wiesbaden.

Böhmer, F., **65.** Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. 12. Jahrg.

Bonnet, R., **78.** Studien über die Innervation der Haarbälge der Haustiere. Morph. Jahrb. Bd. 4, p. 329—398, T. 17—19.

Born, G., **83.** Die Plattenmodelliermethode. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22.

—, **88.** Noch einmal die Plattenmodelliermethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93.** Ein neuer Schnittstrecker. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

Boveri, Th., **87.** Zellen-Studien. Heft 1, Jena.

Bremer, L., **82.** Über die Endigungen der markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 21.

Budge, A., **77.** Die Saftbahnen im hyalinen Knorpel. Arch. mikr. Anat. 14. Bd. p. 65—73, T. 5b.

—, **79.** Weitere Mitteilungen über die Saftbahnen im hyalinen Knorpel. Ibidem, 16 Bd. p. 1—15, T. 1.

Bütschli, O., **92.** Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 234 p., 23 Fig., 6 Taf. Separat-*Atlas* von 19 Mikrophotographien. Leipzig.

Calberla, E., **77.** Ein Beitrag zur mikroskopischen Technik. Morph. Jahrb. Bd. 3.
Carrière, J., **82.** Kurze Mitteilungen zur Kenntnis der Herbstschen und Grandryschen Körperchen in dem Schnabel der Ente. Arch. Mikr. Anatomie, 21. Bd., p. 146—164. T. 6.
Chrzonszczewsky, N., **64.** Zur Anatomie der Niere. Virchows Arch. Bd. 31.
—, **66.** Zur Anat. u. Physiol. d. Leber. Virchows Arch. Bd. 35.
Cohnheim, **67.** Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Hornhaut. Virchows Arch. Bd. 34, p. 606—622. T 14.
Cox, W. H., **90.** Nederlandsch Tijdschrift for Geneeskunde. D. 12.
—, **91**, Imprägnation des centralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. Arch. Mikr. Anat. 37. Bd. p. 16—21, T. 2.
Czokor, J., **80.** Die Cochenille-Karminlösung. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. 18.

Dejerine, J., **95.** Anatomie des Centres nerveux. Tome I, Paris.
Dippel, L., **82.** Das Mikroskop und seine Anwendung. I. Teil. Handb. d. allgemeinen Mikroskopie. 2. Aufl. Braunschweig.
Dogiel, A. S., **90.** Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien nnd Reptilien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35.
Dreser, **86.** Zur Chemie der Netzhautstäbchen. Zeitschrift für Biologie Bd. 22.
Duval, M., **78.** Précis de technique microscopique et histologique. Paris.

Eberth, C. J., **71/72.** Die Nebennieren. In Strickers: Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.
Ebner, V. v., **75.** Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitz.-Ber. Akad. Wien. Bd. 72, 3 Abt., p. 1—90, T. 1—4.
—, **91.** Histologie der Zähne mit Einschluſs der Histogenese. In: Handb. d. Zahnheilkunde von J. Scheff jr., 1. Bd. Wien
Ehrlich, P., **76.** Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. f. mikr. Anatomie, 13. Bd.
—, **85.** Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin.
—, **91.** Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Teil. (Enthält gesammelte Abhandlungen von ihm und Arbeiten seiner Schüler Westphal, Spilling, Schwarze.)
Ewald, A. und W. **Kühne**, **74.** Die Verdauung als histologische Methode. Verh. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 1, p. 451—456.

Fick, R., **93a.** Über Reifung und Befruchtung des Axoloteleies Verhandl. d. Anat. Gesellsch.
—, **93b.** Über die Reifung und Befruchtung des Axoloteleies. Zeitschr. f. wiss. Zoologie Bd. 56.

Field, H. H. und **Martin,** J., **94.** Mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und f. mikr. Technik. XI, p. 6—12.
Fischer, 75. Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12.
Fischer, A., **93.** Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. Anat. Anz. 9. Bd.
Fischer, E., **76.** Über die Endigungen der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbeltiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.
Flechsig, P., **76.** Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen. Leipzig.
Flemming, W., **82.** Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. p. VIII und 1—424. 24 Fig. und 8 Taf. Leipzig.
—, **86.** Surrogate f. Knochenschliffe. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.
—, **89 a.** Über die Löslichkeit osmierten Fettes und Myelins in Terpentinöl. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, 6. Bd., p. 39—40.
—, **89 b.** Weiteres über die Entfärbung osmierten Fettes in Terpentin und anderen Substanzen. Ibidem, p. 178—181.
—, **91 a.** Über Teilung und Kernformen bei Leukocyten, und über deren Attraktionssphären. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXVII, p. 249—298.
—, **91 b.** Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Archiv f. mikr. Anatomie Bd. XXXVII, p. 685—751.
—, **95 a.** Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. f mikr. Anat. Bd. 45.
—, **95 b.** Über den Bau der Spinalganglien bei Säugetieren, und Bemerkungen über den der zentralen Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.
Fleischl, E., **74.** Über die Beschaffenheit d. Axencylinders. Beiträge Anat. Phys. Festgabe f. Karl Ludwig p. 51—55. 1 Taf. Leipz.
Flesch, M., **80.** Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels. p. 1—102, 5 T. Würzburg.
Fol, H., **84.** Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie etc., 1. (einzige) Lief. Die mikroskopisch-anatomische Technik. p. 1—208, 84 Fig. Leipzig.
Franke, Ad., **81.** Die Reptilien u. Amphibien Deutschlands. Leipzig
Frey, H., **68.** Die Hämatoxylinfärbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 4.
Friedländer, 82. Mikroskopische Technik. Berlin.
Frommann, C., **64 a.** Über Färbung der Binde- und Nervensubstanz des Rückenmarkes durch arg. nitr. und über die Struktur der Nervenzellen. Virchows Arch. Bd. 31.
—, **64 b.** Zur Silberfärbung d. Axencylinder. Virchows Arch. Bd 31.
Froriep, A., **78.** Über das Sarcolemm und die Muskelkerne. Arch. f. Anat. und Physiol. Anat. Abt.

Gad, J. (Chr. Sihler), **95.** Über eine leichte und sichere Methode, die Nervenendigung an Muskelfasern und Gefäfsen nachzuweisen. Verhandl. der Berliner Physiol. Gesellsch. in: Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abt.
Garbini, A., **86.** Di un nuovo metodo per doppia colorazione. *Zool. Anz.* 9. Jahrg.

Gasser, 78. Der Primitivstreif bei Vogelembryonen. Cassel.
Gerlach, J., **58.** Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. p. VI und 1—72. 8 Taf. Erlangen.
—, **71, 72.** Von dem Rückenmark. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben p. 665—693. Fig. 217—229. Leipzig.
—, **72.** Struktur der Gefäfshäute. Sitzungsber. d. phys.-med. Soc. zu Erlangen.
Gierke, H., **84, 85.** Färberei zu mikroskopischen Zwecken. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd 1 und 2.
Giesbrecht, W., **81.** Zur Schneide-Technik. Zool. Anz. 4 Jahrg.
Goldscheider, 86. Demonstration von Präparaten, betreffend die Endigung der Temperatur und Drucknerven in der menschlichen Haut. Verhandl. der Physiol. Ges. zu Berlin, 1885. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt.
Golgi, C., **94.** Untersuchungen über den feineren Bau des centralen und peripherischen Nervensystems. p. 1—272, 30 Taf. Deutsch von R. Teuscher, Jena. (Enthält sämtliche Untersuchungen Golgis über das obige Thema seit 1871).
Grenacher, A., **79.** Einige Notizen zur Tinktionstechnik, besonders zur Kernfärbung. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd, p. 463—471.
Gscheidlen, R., **76.** Physiologische Methodik. Braunschweig.

Hällstén, 86. Ein Compressorium für mikroskopische Zwecke. Zeitschr. f. Biologie Bd. 22.
Halliburton, W. D., **95.** Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie. Deutsch von K. Kaiser. 2. Aufl. Heidelberg.
Hammer, Bernh., **91.** Über das Verhalten von Kernteilungsfiguren in der menschlichen Leiche. Dissert. Berlin, 39 p.
Hannover, 40. Die Chromsäure, ein vorzügliches Mittel bei mikroskopischen Untersuchungen. Joh. Müllers Archiv.
Hansen, Fr. C. C., **95.** Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins. Zool. Anz. Nr. 473
Haug, R., **91 a.** Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Eine technisch-histologische Studie. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.
—, **91 b.** Über eine neue Modifikation der Phloroglucin-Entkalkungsmethode. Centralblatt f. allg. Path. und path. Anat. Bd. 2.
Heidenhain, R., **80.** Physiologie der Absonderungsvorgänge. Handbuch der Physiol. von L. Herrmann Bd. V, S. 1—420.
—, **86.** Eine Abänderung der Färbung mit Hämatoxylin und chromsauren Salzen. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. 27.
—, **88.** Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Arch f. d. ges. Physiol. Pflüger 43. Bd. Suppl.
Heidenhain, M., **92.** Über Kern und Protoplasma. Festschr. f. Kölliker. Leipzig. p. 109—166. Taf. 9—11.
Heidenhain, M., **94.** Neue Untersuchungen über die Zentralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat 43 Bd. p. 423—758. T. 25—31.
Henle, J., **71.** Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen. Bd. 3, Abt. 2 (Vorrede)

Henneguy, F., **88.** Recherches sur le developpement des Poissons osseux. (Embryogenie de la Truite). Journal de l'anatomie et de la physiologie. Pouchet. 24. année. S. 416 ff.

Hermann, 93. Technik. Methoden zum Studium des Archiplasmas und der Centrosomen tierischer und pflanzlicher Zellen. Ergebnisse der Anat. und Entwickelungsgeschichte. Von F. Merkel und R. Bonnet. Bd. 2 Abt. 2.

Hertwig, O., **83.** Die Entwicklung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. Jena.

His, W., **61.** Untersuchungen über den Bau der Lymphdrüsen. Zeitschr. f. wiss. Zoologie, 11. Bd. 24 p. Taf. 8, 9.

—, **68.** Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig.

—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion und über deren Bedeutung für Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Anat. Anz. 2. Jahrg.

Holmgren, F , **74.** Methode zur Beobachtung des Kreislaufs in der Froschlunge. Beiträge zur Anatomie und Physiologie. Festgabe für Ludwig. Leipzig.

Hoppe-Seyler, F. und **Thierfelder**, H., **93.** Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 6. Auflage. Berlin.

Hoyer, H., **90.** Über den Nachweis des Mucins in Geweben mittels d. Färbemethode. Arch. Mikr. Anat. 36. Bd., p. 310—374.

Kaes, Th., **91.** Die Anwendung der Woltersschen Methode auf die feinen Fasern der Hirnrinde. Neurologisches Centralblatt.

v. Kahlden, 95. Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 4 Aufl. Jena. G. Fischer.

Kallius, E., **92.** Ein einfaches Verfahren, um Golgische Präparate für die Dauer zu fixieren. Anat. Hefte 1 Abt. 5. Heft, p. 271—275.

Kann, H., **89.** Über das Epithel des Ureters. Inaug.-Diss. München. 26 p. 1 Taf

Kastschenko, N., **86.** Methode zur genaueren Rekonstruktion kleinerer makroskopischer Gegenstände. Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt.

—, **87.** Die graphische Isolierung. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **88.** Über das Beschneiden mikroskopischer Objekte. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

Keibel, F., **94.** Ein kleiner Hilfsapparat für die Plattenmodelliermethode. Zeitschr. f. wissensch. Zool. u. f. mikrosk. Technik Bd. XI, p. 162—163.

Key, A. und **Retzius**, G., **82.** Über die Anwendung der Gefrierungsmethode in der histologischen Technik. Biologische Untersuchungen, herausg. von G. Retzius.

S. auch: Om frysningsmetodens användande vid histologisk teknik. Nordisk Medicinsk Arkiv Bd. 6, 1874.

Klaatsch, H., **87.** Zur Färbung von Ossifikationspräparaten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

Kleinenberg, N., **76.** Deutsche Ausgabe von Foster und Balfour, Grundzüge der Entwickelungsgeschichte der Tiere, p. XX und 1–267. 71 Fig. Leipzig.

Koch, G. v., **78.** Über die Herstellung dünner Schliffe von solchen Objekten, welche aus Teilen von sehr verschiedener Konsistenz zusammengesetzt sind. Zool. Anz. 1. Jahrg. p. 36—37.

Kölliker, A., **81.** Zur Kenntnis des Baues der Lunge des Menschen. Verh. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg. Bd. 16.

—, **86.** Der feinere Bau des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIV, p. 1—37.

—, **93.** Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. 2, 1. Hälfte. Leipzig.

Kolossow, A., **92.** Über eine neue Methode der Bearbeitung der Gewebe mit Osmiumsäure. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 9.

Kopsch, Fr., **96.** Erfahrungen über die Verwendung des Formaldehyds bei der Chromsilber-Imprägnation Anat. Anz., XI. Bd. p. 727.

Krause, C., **44.** Artikel Haut in: Handwörterb. d. Physiol., herausg. von R. Wagner. 2. Bd. Braunschweig.

Krause, W., **84.** Untersuchungsmethoden. Internation. Monatsschrift f. Anat. und Histol. Bd. 1.

Krönig, 86. Einschlußkitt für mikroskopische Präparate. Arch. mikr. Anat., 27. Bd., p. 657—658.

Kühne, W., **86.** Neue Untersuchungen über die motorische Nervenendigung. Zeitschr. f. Biol. München. Bd. 23.

Kühne, W. und **Chittenden**, R. H, **89.** Über das Neurokeratin. Zeitschr. f. Biologie.

Kühne, W. und **Lea**, A. Sch., **74.** Über die Absonderung des Pankreas. Verh. d. Naturhist. Ver. Heidelberg. (N. F.) Bd. 1.

Kultschizky, N., **87a.** Zur histologischen Technik. II. Celloidin-Paraffin-Einbettung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und f. mikr. T. Bd IV, p. 48—49.

—, **87b.** Zur Kenntnis der modernen Fixierungs- und Konservierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

—, **90.** Über Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Centralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. Anat. Anz. Jahrg. 5.

Kupffer, C., **76.** Über Sternzellen der Leber. Arch. mikr. Anat. 12. Bd., p. 353—358.

—, **83**, 2. Über den »Achsencylinder« markhaltiger Nervenfasern. Sitz.-Ber. Akad. München, 13. Bd. p. 466—475. 1 Taf.

—, **89.** Über den Nachweis der Gallenkapillaren und spezifischer Fasern in den Leberläppchen durch Färbung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. Phys. München. 5. Bd., p. 82—86.

Langendorff, O., **89.** Beiträge zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt., Suppl. p. 219—242, T. 5.

Leber, T., **68.** Zur Kenntnis der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe. Arch. f. Ophthalmologie Bd. 14.

Ledermann, R. und **Ratkowski, 94.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Wien und Leipzig. W. Braumüller.

Lenhossék, M, **95.** Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuester Forschungen. Berlin. 2. Aufl.

Lepkowsky, W., **92.** Beitrag zur Histologie des Dentins mit Angabe einer neuen Methode. Anat. Anz. Bd. 7.

Löwit, 75. Die Nerven der glatten Muskulatur. Wiener Sitzungsber. Bd. 71.

Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern, **84.** Über Endorgane der sensiblen Nerven in der Zunge der Spechte. Münchener akad. Sitzungsber.

London, B., **81.** Das Blasenepithel bei verschiedenen Füllungszuständen der Blase. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt. p. 317 bis 330.

Mall, F., **91.** Das reticulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abh. Math. Physik. Class. Sächs. Ges. Wiss. 17. Bd., p. 299—338.

Marchi et **Alghieri, 85.** Sulla degenerazioni discendenti consecutivi a lesioni della corteccia cerebrale. Rivista sperimentale di frenatria. Vol. XI.

Mayer, P., **81.** Über die in der zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 2, p. 1—27.

—, **83.** Einfache Methode zum Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Mitt. Station Neapel Bd. 2, p. 521—522.

—, **87.** Aus der Mikrotomtechnik. Internat. Monatsschr. f. Anat. und Physiol. Bd. 4.

—, **91.** Über das Färben mit Hämatoxylin. Mitt. zool. Station zu Neapel 10. Bd., p. 170—186.

—, **92.** Über das Färben mit Karmin, Kochenille und Hämateïn-Thonerde. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 10.

—, **96.** Über Schleimfärbung. Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 12.

Mercier, A., **94.** Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 11.

Merkel, F., **83.** Die Speichelröhren Rectoratsprogramm Rostock. p. IV und 1—28. 2 Taf. Leipzig.

—, **77.** Eine neue Methode für Untersuchung des Centralnervensystems. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.

Metzner, R., **94.** Beiträge zur Granulalehre. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol Abt. p. 309—348.

Meyer, S., **95.** Die subkutane Methylenblauinjektion, ein Mittel zur Darstellung der Elemente des Centralnervensystems vom Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.

Moleschott, Jak., **59.** Ein Beitrag zur Kenntnis der glatten Muskeln. Untersuchungen zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 6.

Moleschott, J, **Piso-Borme**, G., **63.** Über das Vorkommen gabelförmiger Tellungen an glatten Muskelfasern. Unters. zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 9.

Müller, H. F., **92.** Die Methoden der Blutuntersuchung. Zusammenfassendes Referat. Centralbl. Allg. Path. Path. Anat. 3. Bd. p. 801—820, 851—72.

Müller, H., **59.** Über glatte Muskeln und Nervengeflechte der Chorioidea im menschlichen Auge. Verhandl. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg.

Auch in: Heinrich Müllers Gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges. 1. Bd. Gedrucktes. Zusammengestellt und herausgeg. von Otto Becker.

Neelsen und **Schiefferdecker**, P., **82.** Beitrag zur Verwendung der ätherischen Öle in der histologischen Technik. Arch. f. Anat. und Phys., Anat. Abt.

Negro, C., **87.** Sur les terminaisons nerveuses motrices. Arch. ital. de biol. T. 9.

Neuhauss, R., **90.** Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschw. H. Bruhn.

Nissl, F., **95.** Der gegenwärtige Stand der Nervenzellenanatomie und -Pathologie. Zeitschr. f. Psychiatrie. Bd. 51.

Norris, W. F., and **Shakespeare**, E. O., **77.** A new method of double staining. American Journ. of the med. sc.

Nuel, J. P., et **Cornil**, F., **90.** De l'endothelium de la chambre anterieure de l'oeil, particulièrement de celui de la cornée. Archives de Biologie. T. 10.

Obersteiner, H., **96.** Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane im gesunden und kranken Zustande. Leipzig und Wien.

Obregia, A., **90.** Serienschnitte mit Photoxylin oder Celloidin. Neurologisches Centralbl. Bd. 9.

Oppel, A., **90.** Eine Methode zur Darstellung feinerer Strukturverhältnisse der Leber. Anat. Anz., 5. Jahrg. p. 143—145.

—, **91.** Über Gitterfasern der menschlichen Leber und Milz. Anat. Anz., 6. Jahrg. p. 165—173, 4 Fig.

Pal, J., **86.** Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Med. Jahrb. Wien. p. 619—631.

Perenyi, J., **82.** Über eine neue Erhärtungsflüssigkeit. Zool. Anz. 5. Jahrg.

Pfitzner, W., **80.** Die Epidermis der Amphibien. Morph. Jahrb. Bd. 6.

—, **82.** Über den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkernes. Morph. Jahrb. 7. Bd.

Pleuge, H., **96.** Härtung mit Formaldehyd und Anfertigung von Gefrierschnitten, eine für die Schnelldiagnose äußerst brauchbare Methode. Münchener med. Wochenschr. Nr. 4.

Podwissotzki, **87.** Über die Beziehungen der quergestreiften Muskeln zum Papillarteil der Lippenhaut. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30 p. 327, T. 17.

Politzer, A., **89.** Die anatomische und histologische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans im normalen und kranken Zustande Stuttgart.
Prudden, J. M., **85.** Fragekasten. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 2.

Rabl, C., **85.** Über Zellteilung. Morph. Jahrb. 10. Bd. p. 214 bis 330, T. 7—13.
—, **94.** Einiges über Methoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XI.
Rabl, H., **91.** Die Entwicklung und Struktur der Nebennieren bei den Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.
Ramon y Cajal, S., **94a.** Die Retina der Wirbeltiere. Untersuchungen mit der Golgi-Cajalschen Chromsilbermethode und der Ehrlichschen Methylenblaufärbung Übersetzt von R. Greeff. Wiesbaden.
—, **94b.** Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. Paris.
Ranvier, **68.** Technique microscopique. Journal de l'Anat
—, **75.** Des préparations du tissu osseux avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcohol. Travaux Lab. Histol. p. 16—21.
—, **78.** Leçons sur l'histologie du système nerveux. Bd. 1, p. III und 1—352. 4 Taf. 20 Fig und Bd. 2, 380 p. 8 Taf.
—, **80.** Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire. p 1—466, 99 Fig Paris.
—, **81.** Leçons d'anatomie générale. Terminaisons nerveuses sensitives Cornée. p. XX, 447. 54 Fig. Paris.
—, **89.** Traité technique d'histologie. Paris, 2 éd.
Vom Rath, O., **95.** Zur Konservierungstechnik. Anat. Anzeiger, 11. Bd.
Rauber, A., **76.** Über die Stellung des Hühnchens im Entwickelungsplan. Engelmann.
Rawitz, B., **95a.** Die Verwendung der Alizarine und Alizarincyanine in der histiologischen Technik. Anat. Anz., Bd. 11.
—, **95b.** Über eine Modification in der substantiven Verwendung des Hämateins. Anat. Anz. Bd. XI, p. 301—303.
Rehm, **92.** Einige neue Färbungsmethoden zur Untersuchung des centralen Nervensystems. Münchener mediz. Wochenschrift, Jahrg. 39.
Reichert, K B, **49a.** Die glatten Muskelfasern in den Blutgefäfswandungen. Müllers Archiv.
Auch: Observationes microchemicae circa nonnullas animalium telas. Dorpati, 1848. Paulsen.
—, **49b.** Beobachtungen über eine eiweifsartige Substanz in Krystallform. Müllers Archiv, Jahrg. 1849.
Reinke, Fr, **93.** Über einige Versuche mit Lysol an frischen Geweben zur Darstellung histologischer Feinheiten. Anat. Anz. S. 18—19.
—, **95.** Die Japanische Methode zum Aufkleben von Paraffinschnitten. Zeitschr. f. wiss Mikr. Bd. 12.

Renaut, J., **81.** Sur le mode de préparation et l'emploi de l'éosine et de la glycérine hématoxyliques en histologie. Arch. de Physiol.

Retzius, G., **84.** Das Gehörorgan der Wirbeltiere. 2. Bd. (Reptilien, Vögel und Säuger). Stockholm.

Riese, H., **91.** Über die Technik der Golgischen Schwarzfärbung durch Silbersalze etc. Centralbl. f. allg. Pathol. u. patholog. Anat. II. Bd., p. 497—519.

Röse, C., **92.** Über die v. Koch'sche Versteinerungsmethode. Anat. Anz. VII. Jahrg. p. 512—519.

—, **93.** Über die Zahnentwicklung der Krokodile. Morpholog. Arb. von G. Schwalbe. III. Bd. 2. H, p. 195—228.

Rollett, A., **59.** Untersuchungen über die Struktur des Bindegewebes. Unters. z. Naturlehre d. Menschen und der Tiere. Herausg. von Moleschott. Gießen. Bd. 6.

—, **71.** Von den Bindesubstanzen. Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

—, **72.** Über die Hornhaut. Handbuch der Lehre von den Geweben. Herausg. von Stricker.

—, **85.** Untersuchungen über den Bau der quergestreiften Muskelfasern. Denkschr. Akad. Wien, math.-naturw. Kl. Bd. 49. Abt. 1 p. 81—132 und Bd. 51, Abt 1 p. 23—68.

Roux, W., **94.** Die Methoden zur Erzeugung halber Froschembryonen und zum Nachweis der Beziehung der ersten Furchungsebenen zur Medianebene des Embryo. Anat. Anz. Bd. 9.

Sauer, H., **95.** Neue Untersuchungen über das Nierenepithel und sein Verhalten bei der Harnabsonderung. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. 46.

Schällibaum, H., **83.** Über ein Verfahren, mikroskopische Schnitte auf dem Objektträger zu fixieren und daselbst zu färben. Arch. mikr. Anat. Bd. 22.

Schaffer, J., **88.** Die Färberei zum Studium der Knochenentwickelung. Zeitschr f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93.** Die Methode der histologischen Untersuchung des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

Schiefferdecker, P., **82.** Über die Verwendung des Celloidins in der anatomischen Technik. Arch. Anat. u. Phys., Anat. Abt.

—, **86.** Methode zur Isolierung von Epithelzellen. Jahrb. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

Schneider, A., **80.** Über Befruchtung. Zoolog. Anz.

Schultze, M., **64.** Die Anwendung mit Jod konservierter tierischer Flüssigkeiten als macerierendes und konservierendes Mittel bei histologischen Untersuchungen. Virchows Arch. Bd. 30 p. 263—265.

—, **65.** Ein heizbarer Objekttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

—, **71.** Essigsaures Kali zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7.

Schultze, M., **65** und **Rudneff,** M., **65.** Weitere Mitteilungen über die Einwirkung der Überosmiumsäure auf tierische Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

Schultze, O., **87.** Untersuchungen über Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Zeitschr. f wiss. Zool. Bd. 45.

Schulze, F. E., **71.** Die Lungen. Stricker's Handb. d. Lehre von den Geweben. Leipzig.

Schweigger-Seidel, F., **65.** Die Nieren des Menschen und der Säugetiere in ihrem feineren Baue. p. 1—92, 4 Taf. Halle.

—, **68.** in: Cyon, Über die Nerven des Peritoneums. Ber. d. Sächs. Gesch. d. Wiss.

Solger, B., **83.** Über die Einwirkung des Wasserstoffsuperoxydes auf tierische Gewebe. Centralbl. f. d. med. Wiss.

—, **89 a.** Kohlensaurer Ammoniak, ein Mittel zur Darstellung des Sarkolemmas. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 6.

—, **89 b.** Zur Struktur der Pigmentzelle. Zool. Anz. 12. Jahrg.

—, **93.** Zur Kenntnis osmirten Fettes. Anat. Anz. Bd. 8.

Soulier, A., **91.** Sur quelques points de l'Anatomie des Annelides tubicoles etc. Paris

Spee, Graf F., **85.** Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter, lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und für mikroskop. T. Braunschweig. Bd. 2.

—, **87.** Über die ersten Vorgänge der Ablagerung des Zahnschmelzes. Anat. Anz. 2. Jahrg.

Stöhr, Ph., **94.** Lehrbuch der Histologie. 6. Aufl, Jena G. Fischer.

Stofs, A., **91.** Konstruktion eines Kühlmessers. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.

Strasser, H., **86.** Über das Studium der Schnittserien und über die Hilfsmittel, welche die Rekonstruktion der zerlegten Form erleichtern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

Strelzoff, Z., **73.** Über die Histogenese der Knochen. Unters. a. d. pathol. Institut Zürich. Leipzig.

Ströbe, H., **93.** Zur Technik der Achsencylinderfärbung im centralen und peripheren Nervensystem. Centralbl. f. allgem. Path. u. path. Anat. IV. B. S. 49—57.

Tappeiner, H., **90.** Lehrbuch der Arzneimittellehre und Arzneiverordnungslehre. Leipzig.

Teichmann, L. K., **53.** Über Krystallisation der organischen Bestandteile des Blutes. Zeitschr. f. rationelle Medizin. Bd. 3.

v. Thanhoffer, 77. Über die Entzündung nebst einigen Bemerkungen über die Struktur der Hornhaut und über die Eosin-Reaktion. Centralbl. d. med. Wiss.

v. Thanhoffer, L. (Krausz), **85.** Grundzüge der vergleichenden Physiologie und Histologie. Stuttgart.

Thoma, R., **91.** Eine Entkalkungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 8. Bd., p. 191—192.

Unna, P. G., **91.** Notiz, betreffend die Tänzersche Orceinfärbung des elastischen Gewebes. Monatshefte f. prakt. Dermatolog. XII. Bd., p. 394—396.

Virchow, R., **47.** Die pathologischen Pigmente. Virchows Arch Bd. 1.

—, **50.** Einige neue Beobachtungen über Knochen- u. Knorpelkörperchen. Verh. d. Physik.-med. Ges. Würzburg. Bd. 1, p. 192—197.

Waldeyer, W., **82.** Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, insbesondere der Haare und Federn. Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe f. J. Henle. Bonn.

Weigert, C., **78.** Bismarckbraun als Färbemittel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 15.

Weigert, C., **81.** Zur Technik der mikroskop. Bakterienuntersuchungen. Virchows Archiv. Bd. 84.

—, **85.** Über Schnittserien von Celloidinpräparaten des Centralnervensystems zum Zwecke der Markscheidefärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 11.

—, **91.** Zur Markscheidenfärbung. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 42, 9 p.

—, **94.** Technik. Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungsgeschichte. Bd. 3.

—, **95.** Beiträge zur Kenntnis der normalen menschl. Neuroglia. Festschr. zum fünfzigjähr. Jubiläum des ärztl. Ver. zu Frankfurt a/M.

Weismann, A., **61.** Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosche. Zeitschr. f. ration. Med. 3. Reihe. Bd. 10, p. 263—284. T. 67.

Whitman, C. O., **88.** The eggs of amphibia. American Naturalist. Vol 22.

Wissozky, N., **77.** Über das Eosin als Reagens auf Hämoglobin etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.

Wolters, M., **90.** Drei neue Methoden zur Mark- und Achsencylinderfärbung mittels Hämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7.

—, **91.** Zur Kenntnis der Grundsubstanz und der Saftbahnen des Knorpels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37.

Zenker, K., **94.** Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. München. med. Wochenschr. Jahrg. 41, p. 532—534.

Zimmermann, A., **95.** Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wiss. Mikr. Leipzig und Wien.

Register.

A.

§§

Abbescher Beleuchtungsapparat 32, 54
Abbescher Zeichenapparat 33
Aberration . . . . . 42 ff.
Ablösung des Eiweifses . 189
Absoluter Alkohol . . 122
Abziehen d. Rasiermessers 67
Abziehen des Mikrotommessers 154
Adenoides Gewebe . . . 524
Afanassiewsche Flüssigkeit 319
Alaunkarmin 226
Alaunkarmin-Dahlia 339, 373
Alizarine 291
Alkohol absolutus . . 122
Alkoholfixierung 82
Alkohol 1/3 (Ranvier) . . 300
Alkoholhärtung . . . 78
Alkoholische Boraxkarminlösung 228
Altmanns Gefriermethode 295
» Granulamethoden 294 ff.
Altmannsche Korrosionsmethode . . 519, 712, 715
Alveoläres Bindegewebe . 362
Ammoniakalischer Karmin 221
Amöboide Bewegung . . 326
Amphibieneier 623
Anilinblau für Knochen . 406
» -Safranin . . . 269

§§

Anilinfarben 215, 249 ff., 334 ff.
Apochromaten 28
Aqua Javelli . . . 519, 628
Areoläres Gewebe . . . 360
Atropin 534
Auerbachscher Plexus . 559
Aufhellungsmittel für Celloidinpräparate . . 182
Aufkleben . . 183 ff., 283, 381
Aufkleben mit Alkohol oder Wasser 186
Aufkleben mit Eiweifs . 189
Aufkleben mit Farblösung 188
Aufkleben von Celloidinschnitten . . 193, 194, 195
Aufspannen der Nerven . 447
Aufspannen von Darmstücken 535
Auge . . . . . 697 ff.
Aufsenzone des Pankreas 557
Auswaschen 83, 212
Automatische Mikrotome 160
Axencylinder . . . 451, 481

B.

Bänderschneiden 174
Beales Karmin 230
Becherzellen des Darmes 543
Befruchtung, künstliche . 622
Belegzellen . . . . . 537 ff.

§§

Bendasche Hämatoxylinfärbung 665
Benzoazurin 274
Berlinerblau, Herstellung 518
» Leim . . . 518
Bestandteile d. Mikroskops 1 ff.
Beweglicher Objekttisch . 23
Beweglichkeit des Stativs 14 f.
Bezeichnung der Schnittreihenfolge 184
Bindegewebe . . . . 353 ff.
» der Leber 568 ff.
Vergoldung 568
Dichromsaures Silber 570, 571
Pinselmethode 572
Bindegewebsknorpel . . 382
Biondi-Ehrlichs Dreifarbgemisch 273
Bismarckbraun 252
Blende . . . **5 f., 9, 19**, 54
Bleu de Lyon . . . **257**, 416
Blut . . . . . 315 ff.
» -Gefäfse . . . . 510 ff.
» -Körperchen . . . 315 ff.
Blutkörperchenzählapparat 352
Blutkreislauf . . . . 349 ff.
Blutplättchen 319
Böhmersches Hämatoxylin 234
Bonnetsche Hämatoxylinmethode 696
Boraxkarmin-Indigokarmin 258
Boraxkarminlösung, wässerige 227
Boraxkarminlösung, alkoholische 228
Brechungsindex 39
Brüten 641

C.

Canadabalsam 200
Celloidindurchtränkung . 134
Celloidin-Löslichkeit . . 136
» -Paraffindurchtränkung . . . . . 137 ff.
Celloidinschnitte, Aufkleben . . . . . 193 ff.
Centrosomen 292
Chloralhydratlösung, 10%ig 726

§§

Chloroform für Paraffindurchtränkung 129
Chorioidea 715
Chromameisensäure . . 114
Chromatin 212, 289
Chromatische Aberration 44
Chrom-Essigsäuregemisch 94, **95**
» -Osmiumessigsäuregemisch 96, 98, 99
Chrom-Osmiumsäure . . 392
Chromsäure **83**, 88, **304**, 393, 424, 451, 472, 596
Chromsaurer Ammoniak, (neutral) 594
Chromsaures Silber 485 ff., 527, 558, 566, 567, 570, 571
Chrzonszczewskys Methoden . . . 564, 590
Cochenille 232
Cornea . . . . . 701 ff.
Cortisches Organ . . . 736
Cox Sublimatfärbung . . 484
Curare 350
Cutis . . . . . 361, **674 ff.**
Cylinderblende 7

D.

Dahlia-Alaunkarmin . . . 339
Dammarharz 202
Darm . . . . . 530 ff.
Dauerpräparate von Blutkörperchen . . . . 329 ff.
Deckgläschen 47
Deckglaspräparate . . . 330
Deckglastaster 26
Delafields Hämatoxylin . 242
Descemetsches Endothel 704 ff.
Diaphragma 6, 7
Dichromsaures Silber 485 ff., 527, 558, 566, 567, 570, 571
Dogiels Methylenblaumethode 492
Doppelfärbungen . . 254 ff.
Doppelmesser . . . . . 68 f.
Doppeltchromsaur. Kalium 84
Drehbarer Objekttisch . 21
Drüsen . . . . 533, 550 ff.
Durchtränkung . . . 119 ff.
» s-Schema . 140

E.

§§

Eau de Javelle . . 519, 628
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 391
Ehrlich-Biondische Färbung . . . **273**, 324, 342
Ehrlichs Hämatoxylin . . 243
Ehrlichsche Granula . 334 ff.
Ehrlichs Methylenblaumethode 491
Eier . . . . . 598 ff.
» von Wirbellosen . . 614
» » Fischen . . 616
» » Amphibien . . 623
» » Reptilien . . . 632
» » Vögeln 641
» » Säugetieren . . 649
Einbetten . . . . . **132** ff.
Einfaches Mikroskop . . 2
Einschliefsen . . . . 197 ff.
Einschliefsen von Knochenschliffen . . . 404
Einschlufsmassen . . . 198
Einspannen 162
Einstellen 50, 51 52
Einstichinjektion 521
Eiweifs (aufkleben) . . 189 f.
Eiweifslösende Reagentien 189
Elastische Fasern der Cutis 675 ff.
» » » Lunge 581
Elastische Netze 511
Elastischer Knorpel . . 376
Elastisches Gewebe 358, 362 f., 364
Eleidintropfen 670
Embryonen 613
Endokard 509
Endothelien 308
Entkalken . . . . . 383 ff.

Entkalkungsflüssigkeiten.

Chromosmiumsäure . . 392
Chromsäure 393
Concentrierte Pikrinsäure **387**, 733
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 391
Müllersche Lösung . 393
Phloroglucin mit Salzsäure 395
Pikrin- und Salpetersäure 387

Entkalkungsflüssigkeiten. §§

Salpetersäure 3- bis 9%ig **388**, 733
Salzsäure ½- bis 1%ig . 385
Salzsäure-Chromsäure 1%ig 386
Thomas Entkalkungsflüssigkeit 396
Eosin **261 f.**, 270, 321, 322, 337, 338
Eosinophile Zellen . . . 337
Epidermiszellen 667
Epithelien **298 ff.**, 362, 541, 591 ff.
Epithelien der regio olfactoria 741
Epithelien der regio respiratoria 740
Erhitzen der Blutpräparate 335
Erlickische Flüssigkeit . 86
Erwärmbarer Objekttisch 327
Essigsäure 356, 454
Essigsaures Kalium . . . 204

F.

Färbetechnik, Einübung . 217
Färbung . . . . . 210 ff.

Färbemethoden.

Alaunkarmin 226
» -Dahlia **339**, 373
Alkoholische Boraxkarminlösung . . . 228
Ammoniakalischer Karmin 221
Anilinblau 406
» -Safranin . . . 269
Anilinfarben . 214 f., **247 ff.**
Bealescher Karmin . . 230
Bendas Hämatoxylin . 665
Benzoazurin 274
Berlinerblau 518
Biondi-Ehrlich 273
Bismarckbraun 252
Bleu de Lyon . . 257, 416
Böhmers Hämatoxylin . 234
Boraxkarmin-Indigokarmin 258
Boraxkarminlösung, wässerige 227
Boraxkarminlösung, alkoholische 228

Färbemethoden. §§
Cochenille 232
Dahlia-Alaunkarmin . . 339
Delafields Hämatoxylin 242
Doppelfärbungen . . 254 ff.
Ehrlich-Biondische Färbung . . . **273**, 324, 342
Ehrlichs Hämatoxylin . 243
Eosin . . . . . **261 ff.**, 270, 321, 322, 337, 338
Friedländers Hämatoxylin 243
Fuchsin 253
Fuchsin S. 271, 273, **341**, 452, 495
Garbinis Methode **269**, 540
Gentianaviolett . . 543, 663
Gerlachscher Karmin **218 ff.**, 479
v. Giesonsche Färbung 264
Glycerinhämatoxylin . 247
Glychämalaun 247
Goldmethoden s. diese.
Golgis Methoden s. diese.
Gramsche Methode . . 663
Grenachersche Karmine 225 ff.
Hämalaun (P. Mayer) . 233
Hämatoxylin s. dieses.
Hämatoxylin-Eosin . 261 ff.
Hämatoxylin-Orange G. 265
Hämatoxylin-Pikrinsäure **260**, 417
Hämatoxylin-Safranin . 267
Hansens Hämatoxylin . 246
M. Heidenhains Hämatoxylin **244**, 292
R. Heidenhains Hämatoxylin 241
Henle-Merkelsche Methode 494
Indigokarmin . . 258, 564
Indulin . 274, 312, 337, 338
Karminfärbung s. diese.
Karmin-Hämatoxylin . 415
Kernfärbung . . . 212 f.
Kongorot . . 266, 538, 539
Kultschitzkys Hämatoxylin 501
Mayer, P. Hämalaun . 233
» » Karminlösung 229
Färbemethoden. §§
Mayer, P., Parakarmin . 231
Mehrfachfärbungen . 254 ff.
Methylenblau **274**, 313, 340, 341, 455, 477, **491 ff.**, 544, 728.
Methylgrün 251, 270 ff., 293
Methylgrün-Eosin . . 270
Methylgrün-Fuchsin S. . 271
Methylgrün-Fuchsin S. Orange . . **273**, 324, 342
Methylgrün-Safranin . . 272
Methylviolett 406
Neutraler Farbstoff . . 341
Nigrosin 274
Norris und Shakespearesche Färbung 227, **258**, 323, 415, 681
Orange . . . 265, 273, 337
Orcëin . . . 274, 364, **675**
Osmiumsäure . . . 90 ff.
Palsche Hämatoxylinfärbung 499
Pikrinsäure 260
Pikrokarmin Ranvier . 255
» Weigert . 256
Renauts Glycerinhämatoxylin 247
Rubin S. 273
Safranin . . **250**, 267, 269
» -Anilinblau **269**, 540
» -Gentianaviolett 663
» -Gentianaviolett Orange 292
Safranin-Pikrinsäure . . 260
Saure Karminlösung . 223
Schneiders Karmin . . 222
Schnittfärbung . . 216, 217
Stückfärbung 216
Sublimat . . . . . 482 ff.
Tabelle der Mehrfachfärbungen 275
Thionin 274, 544
Versilberungsmethoden s. diese.
Wässerige Boraxkarminlösung 227
Weigertsche Fuchsin-S.-Methode 495
Weigerts Hämatoxylin 496 ff.

§§
Färbetechnik, Einübung . 217
Färbung . . . . . 210 ff.
Färbung durch Fixationsmethoden 210
Färbung durch Osmiumsäure 210
Farbenzerstreuungs-Vermögen 44
Farbgläser 238
Farbstoffe 214
Feine Einstellung . . . 51
Fett . . . . . 365 ff.
Fettimprägnation . . 520
Fettresorption 549
Fettzellen 361, 365
Fibrillen der Muskeln . 422 ff.
» des Nerven . . 452
» der Sehne . 354 f.
Fibrin 347, 348
Firmen für Mikroskope 13, 37, 38
» » Deckgläschen . 47
Fischeier 616
Fixationsmethoden . . . 80 ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 319
Alkoholfixierung 82
Chloralhydratlösung 10%ig 726
Chromameisensäure . . 114
Chromessigsäure . . 94, **95**
Chromosmiumessigsäure **96, 98, 99**
Chromosmiumsäure . . 392
Chromsäure **83,** 88, 393, 596
DoppeltchromsauresKalium 84
Erhitzen der Blutpräparate 335
Erlickische Flüssigkeit . **86**
Flemmingsche Lösung 96, 98
Folsche Mischung . . **99**
Formol 117
Gefrieren . . . 77, 79, 155
Hermanns Gemisch **100,** 291, **663**
Kalium bichromicum . . **84**
Lysol 118
Müllersche Flüssigkeit . 85
Osmiumsäure **90 ff.,** 329, 367
Perenyische Flüssigkeit 113
Pikrinessigsäure . . . 637

Fixationsmethoden. §§
Pikrinosmiumessigsäure 101
Pikrinsäure . **110,** 241, 289
Pikrinsalpetersäure **111,** 387, 618
Pikrinschwefelsäure **111,** 634, 643, 650
Pikrinsublimat 112
Pikrinsublimatosmiumsäure 102
Platinchloridlösung 1/3%ig **115,** 291
Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig . . . 663
Platinchloridsublimat . 116
vom Rathsche Gemische **101, 102,** 291
Salpetersäure **109,** 289, 311, 388, . 643
Salpetersäure-Silbernitrat 646
Sublimat **103 ff.,** 289, 333, 647
» Blutpräparate . 333
» Chromsäure . 107
» Eisessig . . . 619
» Kochsalz . 105, 319
Trockenpräparate . . . 331
Trocknen . . . 77, 79
Überosmiumsäure . **90 ff.**
Zenkers Gemisch . . . 108
Fixierungsflüssigkeiten 80 ff.
Flechsigsche Methode . . 503
Flemmingsche Flüssigkeit 96, 98
Flimmerepithelien . . . 298
Follikel 548
Folsche Mischung . . . 99
Form zum Einbetten . . 132
Formol 117
Frische Organe . . . 62
Frommannsche Linien 446, 448
Frontlinse 10
Fuchsin 253
Fuchsin S. 271, 273, 341, 452, 495

G.

Gadsche Nervenendenfärbung 464
Galle 318, 730
Gallenkapillaren. Injektion 563

Gallenkapillaren. §§
Selbstinjektion . . . 564
Silbermethode . . 566, 567
Ganglienzellen . . . 468 ff.
Ganglienzellenfortsätze . 479
Garbinis Färbemethode 269, 540
Gedehnter Muskel . . . 428
Gefäße 510
Gefrierapparat 155
Gefrieren 77, 79
Gefriermethode Altmanns 295
Gehirn . . . . 467 ff.
Gelatinekarminlösung . . 517
Geldrollen-Anordnung der roten Blutkörperchen . 315
Gentianaviolett . . 543, 663
Gerlachsche Goldmethode für Rückenmark . . 480
Gerlachsche Karmine 218 ff., 479
Geschlechtsorgane . . 597 ff.
Geschmacksknospen . . 531
Gesichtsfeld 50
Gianuzzische Halbmonde 552
v Giesonsche Färbung . 264
Glatte Muskelfasern . . 435
Glycerin . 180, 197, 198, 203
Glycerinhämatoxylin Renaut 247
Glychämalaun 247
Glykogen 376, 574
Goldchlorid 457
Goldchloridkalium . . . 460
Goldmethoden . . . . 456 ff.
Cohnheimsche G. . . . 456
Gerlachsche G . 480, 568
Golgische G. 460
Kühnesche G. 458
Lepkowskysche G. für Knochen 409
Löwit-Fischersche G. . 457
Muschenkoff 460
Ranviersche G. . 459, 711
Rollettsche G f. Muskeln 427
Stöhrsche G 466
Golgische Goldmethode . 460
Golgische Sublimatmethode 482
Golgis Silbermethoden 485 ff.
Golgis Nervenendorgane . 462
Gramsche Methode . . . 663
Grandrysche Körperchen §§ 687
Granulamethoden Altmanns . . . . . 294 ff.
Granulierte Wanderzellen 336
Grenachersche Karmine 225 ff.
Grobe u. feine Einstellung 50, 51
Größenbestimmung . 55, 56

H.

Haare . . . . . 679 ff.
Hämalaun (P. Mayer) . . 244
Hämatoidinkrystalle . . 346
Hämatoxylin.
Benda 665
Böhmer 234
Bonnet 696
Delafield 242
Ehrlich 243
Friedländer 243
Hansen 246
Heidenhain M. 245
Heidenhain R. 241
Kleinenberg 244
Kultschitzky 501
Mayer P. (Hämalaun) . 233
Pal 499
Renaut 247
Weigert . . 496, 497, 498
Hämatoxylin-Eosin . . 261 f.
» -Färbung . 233 ff.
» -Kongorot . 266, 538, 539
„ -Orange G. . 265
„ -Pikrinsäure 260, 417
» Safranin . . 267
Häminkrystalle 345
Hämoglobin 316
» -Krystalle 343, 344
Härtung 78
Halbeintrocknung Ranvier 354, 443
Hansen, Hämatoxylin . . 246
Harnblase . 64, 298, 595
Harnkanälchen . . . 588 ff.
Hartgebilde 401
Haut . . . . . 362, 666 ff.
Heidenhain M., Hämatoxylin 245

§§
Heidenhain R., Hämatoxylinfärbung 241
Heidenhainsche Wanderzellen 342
Heizbarer Objekttisch . . 327
Henle-Merkelsche Methode 494
Henlesche Scheide . . . 450
Herbstsche Körperchen . 687
Hermannsches Gemisch 100, 663
Herz 508
Herzmuskel 441
Hissche Pinsel- und Schüttelmethode 524
Hoden . . . . . 661 ff.
Höllenstein 308
Hollundermark 328
Homogene Immersions-Systeme 27
Hornhaut . . . . . 701 ff.
Hornhautkörperchen 707, 712
Hornspongiosanetze . . 449
Hornsubstanz 362
Hülse 8
Hüttenrauch 61
Humor aqueus 71
Hyaliner Knorpel 362, **370 ff.**

I.

Japanische Aufklebemethode 190
Immersionssystem . . . 27
Indifferente Lösungen . 70
Indigokarmin . . . 258, 564
Indulin . . 274, 312, 337, 338
Injektionsverfahren . . . 517
Injektion der Blutgefäfse 516 ff.
» » » der Leber 562
» » Blutgefäfse der Gallenwege 563
Injektionsmassen . . 516 ff.
Injizieren von Fixationsflüssigkeit 535
Innenzone des Pancreas . 557
Instandhaltung des Mikroskops . . . . . 57 ff.
Instrumente für Sublimat 103
» » Versilberung 310
§§
Intercellularbrücken . 314, 440
Jodfärbung 376
Jod-Jodkalium 74
Jodserum, M. Schultze **73**, 301
Iris 714
Irisblende 19
Isolationsmittel **299 ff.**, 422, 468 ff., 588 f.
Alkohol, Ranvier 300, 442, 469, 471, 594, 720
Ammonium bichromicum 305
» monochromat. 442
Barytwasser 355
Chlorwasserstoff-Salpetersäure 475
Chromsäure **304**, 424, 451, 472
Essigsäure 425
Jodserum . . . **73**, 301
Kalilauge 432, 436, 441, 511, 590
Kalium bichromicum **305**, 451, 473
Kalkwasser . . . 355, 706
Kochsalzlösung . . . 306
Magensaft 425
Neutraler chroms. Ammoniak 594
Osmiumsäure 302, 469, 474
Oxalsäure 303
Rauchende Salpetersäure 589
Reine Salzsäure . . . 588
Rhodankalium 307
Salpetersäure . . 435, 719
Salzsäure 425
Trypsin 362
Übermangansaures Kalium 706
Jungsches (Thoma) Mikrotom . . . . . 143 ff.

K.

Käfermuskeln 426
Kaiserscher Maskenlack . 208
Kalilauge 357, 359, 432, 436, 441
Kalium bichromicum **84**, 305
Kapillaren 515
Karminfärbung . . 214, **218 ff.**
Alaunkarmin 226
Ammoniakalisch. Karmin 221

Karminfärbung. §§
Beales Karmin . . . 230
Boraxkarmin, alkoh. . 228
» wässer. . 227
Gerlachs Karmin . . 218 ff.
Grenachersche Karmine 225 ff.
P. Mayerscher Karmin 229
P Mayers Parakarmin . 231
Saurer Karmin 223
Schneiders Karmin . . 222
Karmin-Bleu de Lyon **257**, 416
» -Hämatoxylin . . 415
» -Pikrinsäure . . . 260
Karminleim 517
Karyokinesen . . . . 289 ff.
Katschs Mikrotom . . . 159
Kehlkopf . . . . . 576 ff.
Keimcentren 523
Keimepithel 608
Kephalopoden-Knorpel . 375
Keratohyalinkörner . 670, 671
Kern 289
Kernfärbung . . . . 212 f.
Kernteilungen . . . 289 ff.
Klammern des Objekttisches 18
Kleinenbergs Hämatoxylin 244
Knochen 383
Knochenkörperchen Virchows 411
Knochenmark . . . . 398 f.
Knochenschliffe . . 402 ff.
Knorpel . . . . . 370 ff.
Kochsalzlösung als Isolationsmittel 306
Kochsalzlösung physiologische 72
v. Kochsche Methode . . 400
Königswasser 475
Kohlensaurer Ammoniak 420
Kollektivlinse . . . 9, 40
Kollodiumdurchtränkung . 134
Kolloidreaktionen . . . 584
Kolloidsubstanz 584
Kondensor 31
Kongophile Zellen . . . 539
Kongorot . . . 266, 538 f.
Konservierung 81
Konservierungs- siehe Fixationsmethoden.
Kontrahierter Muskel . . 428
Korrektion d. Objektivs . 25
Korrektion der Überfärbung 224, 239
Korrosionspräparate . . 519
Kreuze Ranviers . . 313, **446**
Krönigscher Lack . . . 207
Kroneckersche Flüssigkeit 75
Kühlmesser 175
Kühnesche Goldmethode 458
» Netze . . . 449
» Trypsinverdauung 362
Künstliche Befruchtung . 622
Kultschitzkys Mark-Methode 501, 502
Kupferoxyd-Hämatoxylin 665

L.

Labyrinth des Menschen 737 f.
Laichzeit 616, 623
Lantermansche Segmente 444
Leber . . . . . 362, **560 ff.**
» Bindegewebe . . 568 ff.
» Gallenkapillaren . 563 ff.
» Glykogen 574
» Nerven 575
» Sternzellen 569
Lebersche Berlinerblaumethode 709
Leberzelle 561
Lepkowskys Methode . . 409
Linse 718
Linsenfasern . . . 719, 720
Lösung des Eiweifses . . 189
Lösungsmittel für Silbernitrat 311
Löwit-Fischersche Goldmethode 457
Lunge 579
» Repiratorisch.Epithel 580
» Elastische Fasern . 581
Lupe 2
Lymphe . . . . . **71, 315 ff.**
Lymphdrüsen . . . . 522 ff.
Lymphspalten-Fettimprägnation . 520
» -Einstichinjektion . 521
Lysol 118

M.

§§

Magen . . . . . 535 ff
Mallsche Methode . . . 526
Marchis Methode . . . 506
Markhaltige Nervenfasern 443 ff.
Marklose Nervenfasern . 453
Martinottische Methode . 677
Mastzellen 339
Material für Muskelvergoldung 461
P. Mayersche Karminlösung 229, 231
Media der Gefäfse . . . 511
Mehrfachfärbungen 254 ff., 275
Meifsnersche Körperchen 683
Meifsnerscher Plexus . . 559
Mesenterium 62
Messer für Mikrotome 144 ff., 153
Messerhalter 145
Messerschlitten . . 143, 144
Messerstellung . 164, 173, 174
Messung 55, 56
Methylenblau 274, 313, 340, 341, 455, 477, **491, 492, 493,** 544, 728
Methylenblaufixation . . 493
Methylgrün . 251, 270 ff., 293
» -Eosin . . . 270
» -Fuchsin S. . 271
» » » Orange **273,** 324, 342
» -Safranin . . 272
Methylviolett 406
Mikrometerschraube des Mikroskops **12,** 51
Mikrometerschraubenschlitten . . . . . 150 ff.
Mikroskop . . . . . 1 ff.
Mikrotom . . . . . 141 ff.
Automatisches M. . . 160
Jung (Thoma) » . . 143 ff.
Katschs M. 159
Ranviers M 142
Schanzes » 158
Milz 529
Mitosen . . . . . 289 ff.
Modellieren . . . . 280 ff
Motorische Nervenendigungen 454
Muchämatëin 545

§§

Mucikarmin 545
Mucin . . . . . 544 ff.
Müllersche Fasern . . . 729
» Flüssigkeit **85,** 393
Mundhöhlenschleimhaut . 530
Muschenkoffs Goldmethode 460
Muskelfibrillendarstellung 422 f.
Muskeln . . . . . 418 ff.
Muskelscheibendarstellung 425 f.
Muskel und Sehne . . . 431
Myelintropfen 444

N.

Nase 739
Natriumhypochlorid . . 627
Natürliche Färbung . . 210
Neapler Wasserbad . . . 130
Nebenniere 596
Negros Methode 463
Nelkenöl . . . 180, 197, 236
Nerv . . . . . 443 ff.
Nerven der Epidermis 693 ff.
Nervenendigungen 454 ff., 682 ff.
Nervenfasern . . . . 443 ff.
Nervenfibrillen 452
Netzknorpel . . . 372, 376
Neurogliafärbung . . . 507
Neutraler Farbstoff Fuchsin S. Methylenblau . 341
Niere 586
Nigrosin 274
Nissl-Rehmsche Methode 504, 505
Norris und Shakespearesche Färbung 227, **258,** 323, 415, 681
Nuelsche Methode . . . 705

O.

Oberhäuserscher Zeichenapparat 33
Objektiv 10, 24, 42
Objektivmikrometer . . 55
Objektschlitten . . 143, 147
Objekttisch 5
Objektträger 46
Öle 121
Ölen des Tubus 60
» » Mikrotoms . . 161
Ölimmersionssysteme . . 27

§§

Oesophagus 532
Ohr . . . . . 731 ff
Okular **9**, 29, 42
Okularlinse **9**, 40
Okularmikrometer . . . 55
Omentum 62
Orange . . . 265, 273, 337
Orcëin 274, 364, **675**
Orientieren 133
Orientierungsapparat . . 148
Origanumöl 137, 181
Osmiumsäure . . . 90 ff., 311, 367, 452, 723
Osmiumsäure als Isolationsmittel 302
Ossifikation 414
Ovarien . . . 597 ff., 606 ff.
Oxalsäure als Isolationsmittel 303

P.

Pacinische Körperchen . 690
Palsche Hämatoxylinfärbung 499
Pankreas . . . . . 556 ff.
Papillen der Zunge . . 531
Paraffin . . . . **124 ff.**, 206
Paraffinbefreiung . . . 196
Paraffindurchtränkung . 120 ff.
Paraffinlösende Flüssigkeiten 121
Paraffinsorten 124
Paraffin, überwärmtes . . 125
Parakarmin 231
Parallelfaseriges Bindegewebe 353
Perenyische Flüssigkeit . 113
Perikard 509
Pflasterepithelien . . . 298
Phloroglucin 395
Photographieren 35
Photoxylin **135**, 733
Physiologische Kochsalzlösung **72**, 298
Pigmentzellen 64
Pigmentzerstörende Mittel 716 f.
Wasserstoffhyperoxyd . 716
Nascierendes Chlor . . 717
Pikrinessigsäure 637
Pikrinosmiumessigsäure . 101
Pikrinsäure **110**, 241, 260, 289, 387, 654
Pikrinsalpetersäure, P. Mayer . . **111**, 387, 618
Pikrinsaurer Ammoniak . 492
Pikrinschwefelsäure, Kleinenberg . **111**, 634, 643, 650
Pikrinsublimat 112
Pikrinsublimatosmiumsäure 102
Pikrokarmin nach Ranvier 255
» » Weigert 256
Pilokarpin 534
Pinselmethode 524
Plastische Rekonstruktionsmethode 280
Platinchloridlösung, Rabl 115
» Osmiumsäure Eisessig . . . 663
Platinchloridsublimat . . 116
Plattenmodelliermethode 280 ff.
Polarisationsapparat . . 36
Präparat, mikroskopisches 48
Präpariermikroskop . . 2
Prichardsche Lösung . . 689
Purkinjesche Ganglienzellen 479
» Fäden . . . 442

Q.

Quergestreifte Muskeln . 418
Querstellung des Mikrotommessers 174
Quetschpräparate . . . 476

R.

Ramon y Cajals Modifikation . . 487, 558, 566
Ranviers Alkohol . . . 300
Ranviersche Einschnürungen . . . 443 ff.
» Goldmethode 459
Ranviers Kreuze . . 313, **446**
» Mikrotom . . . 142
Rasiermesser . . . . 66 ff.
vom Raths Gemische 101, 102
Regulator 131

§§

Reinhaltung des Mikroskops 57
Reinigung von Objektträger und Deckgläschen . . . 61
Rekonstruktionsmethoden 276 ff.
Remaksche Fasern . . . 453
Renauts Glycerinhämatoxylin **247**, 426
Reptilieneier 632
Respirationsorgane . . 576 ff.
Respiratorisches Epithel . 580
Retikuläres Gewebe . . 362
Retikuliertes Gewebe (Mall) 526
Retina . . . . . 721 ff.
Revolver 17
Ripart und Petits Flüssigkeit **76**, 307
Rippenknorpel 380
Rolletts Goldmethode . . 427
Rote Blutkörperchen . 315 ff.
» » auf Schnitten . . . . 320 ff.
Rote und weifse Muskeln 429
Rouxs Methoden . . . 631
Rubin S. 273
Rückenmark . . . . 467 ff.

S.

Säugetiereier 649
Säule 3
Safranin **250**, 267, 269
» Anilinblau . **269**, 540
» Gentianaviolett . 663
» Pikrinsäure . . 260
Saftkanälchensystem im Knorpel 374
Salpetersäure **109**, 289, 311, 388, 435, 643, 719
» -Silbernitrat . 646
Salzsäure-Chromsäuregemisch 386
Sarcolemma. . . . . 419 f.
Saure Karminlösung . . 223
Schälen der Eier . . 625 ff.
Schaltstücke 553
Schanzes Mikrotom . . . 158
Scheibenblende 6
Schellackmethede . . . 192
Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts 209
Schema für Durchtränkung 140
Schilddrüse 583
Schlaffer Muskel 428
Schleifen . . . . . 402 ff.
Schleimfärbung . 544, 545
Schlittenmikrotome . . 141
Schmeckbecher 531
Schmelzpunkt des Paraffins 124
Schnecke 734
Schneiden mit dem Rasiermesser 66
Schneiden mit dem Doppelmesser 69
Schneiden mit dem Mikrotom . . . . 161 ff.
Schneiden von Celloidinpräparaten 176
Schneiders Karmin . . . 222
Schnittdicke . . . . 149 ff.
Schnittfärbung . . . 216 f.
Schnittstrecker 169
Schällibaumsche Methode 191
Schüttelmethode 524
Schultzesches Jodserum **73**, 301
Schutzleisten der Deckgläschen 599
Schwannsche Scheide . . 450
Sclera 713
Sehen, das mikroskopische 39 ff.
Sehne . . . . 353 ff., 362
Seitliche Verschiebung des Objekttisches . . . 22
Selbstinjektion der Gallenkapillaren 564
Sensible Nervenendigungen 682
Serienschneiden 177
Sharpeysche Fasern 410, 412
Silbermethoden **308**, 309, 310, 311, 446, 485 ff., 558, 566, 567, 570, 580, 591, 707 f.
Silbermethode am Spirituspräparat 527, 571
Silbernitrat für Cutis . . 361
Silbernitratgelatine . . . 521
Speichelröhren . . . 554 f.
Spermatozoen . . . . 658 f.

§§

Sphärische Aberration . . 43
Spiegel 4
Stativ des Mikroskops . 3, 14
» » Jungschen Mikrotoms 143
Stechapfelform der roten Blutkörperchen . . . 316
Sternzellen 569
Stöhrsche Goldmethode . 466
Stratum corneum . . 667 f.
» granulosum . . 670
» lucidum . . . 669
» spinosum . . . 672
Ströbes Axenzylinderfärbung 481
Strukturlose Membranen . 362
Stückfärbung 216
Sublimat **103**, 289, 333, 482, 647
Sublimatchromsäure . . 107
Sublimat-Eisessig . . . 619
Sublimat-Kochsalzlösung 105, 319
Sublimatkrystalle . . . 103
Sympathicus 453

T.

Tabelle der Mehrfachfärbungen 275
Tabelle der Termini technici 287
Tastscheiben 695
Tauchsystem 27
Teerfarben s. Anilinfarben.
Teichmannsche Häminkrystalle 345
Termini technici 287
Thermostat . . . . 87, **130** f.
Thomasche Entkalkungs-Flüssigkeit . 396
Thomascher Zeichenapparat 34
» -Zeifsscher Blutkörperchen-Zählapparat 352
Thymus 585
Thyreoidea 583
Töten der Tiere 63
Toluol 121
Trachea . . . . . 576 ff.
Trockenpräparate . . . 331

§§

Trocknen 77, 79
Trocknen von Kanadabalsam 201
Trommel der Mikrometerschraube 150
Trypsinverdauung 362, 363, 525, 673
Tube 609
Tubus 8

U.

Überfärbung . . . 224, 239
Überosmiumsäure siehe Osmiumsäure.
Überwärmtes Paraffin . . 125
Umdrehungswert der Mikrometerschraube des Jungschen Mikrotoms . . . 150
Umrandung . . 198, **205** ff.
Umrandungsmassen . 206 ff.
Unterchlorigsaures Natron 499
Ureter 595
Uterus 610

V.

Vasculosa 714
Vater-Pacinische Körperchen 690
Verdauungsmethode 362, 363, 525, 673
Verdauungsstadien . . . 533
Vergoldung 409, 427, 456 ff., 480, 531, 559, 568, 693 ff, 710 f. s. auch Goldmethoden
Vergrößerung 30
Verkalkter Knorpel . . 379
Versilberung **308** ff., 446, 527, 558, 566, 567, 570, 571, 580, 591, 707 f., 729, 743
Vogeleier 641

W.

Wasseraufkleben . . . 186
Wasserimmersionssystem . 27
Wässerige Boraxkarminlösung 227
Weichteile des Knochens 398

R. OLDENBOURG, MÜNCHEN